

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI U OSIJEKU**

Josipa Rupčić

Diplomski studij Bilinogojstvo - Ishrana bilja i tloznanstvo

**UTJECAJ SORTE I OTKOSA NA FUNKCIONALNA SVOJSTVA**  
**PŠENIČNE TRAVE (*Triticum aestivum* L.)**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2019.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI U OSIJEKU**

Josipa Rupčić

Diplomski studij Bilinogojstvo - Ishrana bilja i tloznanstvo

**UTJECAJ SORTE I OTKOSA NA FUNKCIONALNA SVOJSTVA**  
**PŠENIČNE TRAVE (*Triticum aestivum* L.)**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocijenu i obranu diplomskog rada:

1. izv.prof.dr.sc. Andrijana Rebekić, predsjednik
2. izv.prof.dr.sc. Miroslav Lisjak, mentor
3. prof.dr.sc. Tihana Teklić, član

## Sadržaj

1.	UVOD.....	1
1.1.	Pšenična trava ( <i>Triticum aestivum</i> L.).....	1
1.2.	Antioksidativna aktivnost i antioksidansi.....	4
1.3.	Cilj istraživanja.....	7
2.	PREGLED LITERATURE.....	9
3.	MATERIJAL I METODE .....	16
3.1.	Biljni materijal.....	16
3.2.	Priprema zrna za naklijavanje.....	16
3.3.	Uzgoj pšenične trave ( <i>Triticum aestivum</i> L.).....	17
3.5.	Određivanje sadržaja klorofila i karotenoida.....	18
3.6.	Određivanje ukupnih fenola i razine flavonoida.....	18
3.8.	Spektrofotometrijsko određivanje vitamina C .....	19
3.9.	Određivanje antioksidativnih aktivnosti .....	20
4.	Analiza i obrada podataka .....	21
4.	REZULTATI .....	22
5.	RASPRAVA.....	31
6.	ZAKLJUČAK.....	38
7.	POPIS LITERATURE.....	39
8.	SAŽETAK .....	42
9.	SUMMARY .....	43
10.	POPIS TABLICA .....	44
11.	POPIS SLIKA .....	46
12.	POPIS GRAFIKONA.....	47
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA		
BASIC DOCUMENTATION CARD		

# 1. UVOD

## 1.1. Pšenična trava (*Triticum aestivum* L.)

### 1.1.1. Podrijetlo i sistematika

Pšenica (lat. *Triticum sp.* L.). je najvažniji ratarski usjev, poznata više od 10 000 godina te se prvi puta pojavila na području sjeveroistočne Afrike i jugozapadne Azije. Pripada porodici trava (lat. *Poaceae*) (Tablica 1.). Žitarice su uglavnom usjevi umjerene klime, gdje tijekom zime zahtijevaju umjereno blagu klimu te vlažna i topla ljeta. Po sistematici pšenice, potječe iz roda *Triticum* i postoje dvije vrste, *Triticum aestivum ssp. vulgare* - meka pšenica i *Triticum durum* – tvrda pšenica. Pšenica se dijeli na dvije forme: ozima i jara pšenica. *Triticum* je rod godišnjih i dvogodišnjih trava koje daju različite vrste pšenice.

**Tablica 1.** Sistematika pšenice (*Triticum sp.* L.)

SISTEMATIKA	
CARSTVO	<i>Plantae</i>
DIVIZIJA	<i>Magnoliophyta</i>
RAZRED	<i>Liliopsida</i>
RED	<i>Poales</i>
PORODICA	<i>Poaceae</i>
ROD	<i>Triticum</i>
VRSTA	<i>aestivum</i>

Izvor: <https://hr.wikipedia.org/wiki/P%C5%A1enica>

Drevni Egipćani i možda čak rane mezopotamijske civilizacije prije 5 000 godina su mlade listove pšenice cijenili zbog njihovog pozitivnog učinka na njihovo zdravlje i vitalnost. Tijekom povijesti, pšenična trava (*Triticum aestivum* L.), u zapadnom svijetu, sama konzumacija je počela 1930-ih kao rezultat eksperimenata koji je proveo Charles F. Schnabel u pokušajima popularizacije biljke. Poljoprivredni kemičar je koristio svježu pokošenu travu u pokušaju da pomogne bolesnoj peradi. Perad se nakon konzumacije nije samo oporavila, nego je korištenje pšenične trave u liječenju povećalo nosivost jaja koja je bila veća nego kod zdrave peradi. Inspiriran pozitivnim rezultatima počeo ju je i sam konzumirati, sušenjem bi ju koristio kao dodatak prehrani. Počeo ju je promovirati drugim kemičarima i prehrambenim industrijama da bi dvije velike korporacije uložile milijune dolara u daljnja istraživanja, razvoj i proizvodnju pšenične trave za ljude i životinje.

### 1.1.2. Nutritivni aspekti pšenične trave (*Triticum aestivum* L.)

Tijekom cijele ljudske povijesti biljke su imale ključnu ulogu u liječenju bolesti. U tisućama godina suđenja, čovjek je pronašao mnoge biljke koje su dobre za liječenje oboljenja i liječenje ozbiljnih zdravstvenih problema poput raka, dijabetesa i arterioskleroze (Rana i sur., 2011.). Pšenična trava (*Triticum aestivum* L.) je bogata mineralnim hranjivim tvarima, sadrži značajnu količinu željeza, fosfora, cinka, bakra i drugih minerala, visoku količinu vitamina E, klorofila, vitalnih enzima i aminokiselina. Biljke u mladoj fazi proizvode visoku razinu fitokemikalija kako bi se zaštitile od stresa i ti spojevi imaju različite biološke koristi za ljudsko zdravlje. Mlade svježe biljke, predstavljaju dobar izbor zdrave prehrane.



**Slika 1.** Pšenična trava (*Triticum aestivum* L) (Josipa Rupčić)

Sok pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) je najpopularniji konzumirani sok od mladica na svijetu. Pokazalo se da ima protuupalno, antioksidativno, antikancerogeno, imunomodulatorno, laksativno i antibakterijsko svojstvo. Pšenični sok pomaže u izgradnji crvenih krvnih stanica i stimulira rast stanica zdravog tkiva. Bogata je klorofilom i enzimima. Sadrži više od 70 % klorofila, jedan od bitnih sastojaka u prehrani. Molekule klorofila zelenih biljaka su po kemijskoj strukturi slične molekulama hemoglobina u ljudskoj krvi. Sok od pšenične trave je možda najmoćnija i najsigurnija pomoć za iscjeljivanje. Ne zato što može napasti i uništiti bakterije ili zloćudne stanice, poput nekih lijekova, već zato što ima sposobnost ojačati cijelo tijelo jačanjem imunološkog sustava (Wigmore, 1985.).

Pšenična trava je potpuna hrana koja sadrži bioflavonoide, proteine i druge hranjive tvari i pomaže u održavanju tjelesnih funkcija (Mogra i Rathi, 2013.). Učinkovitost biljnih ekstrakata uglavnom je posljedica prisutnosti bioaktivnih sastojaka kao što su fenoli i flavonoidi. Tijekom klijanja pšenice u klicama se minerali prevode u bioraspoložive oblike, sintetiziraju se vitamini, fenolni spojevi, uključujući flavonoide te klice dosežu maksimalni antioksidativni potencijal (Suriyavathana i sur., 2016.).

**Tablica 2.** Količina hranjivih tvari u soku pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) (28.35g)

Hranjive tvari	Pšenična trava - sok
<b>Proteini</b>	860 mg
<b>Beta-karoten</b>	120 IU
<b>Vitamin E</b>	880 mcg
<b>Vitamin C</b>	1 mg
<b>Vitamin B12</b>	0.30 mg
<b>Forfor</b>	21 mg
<b>Magnezij</b>	8 mg
<b>Kalcij</b>	7.2 mg
<b>Željezo</b>	0.66 mg
<b>Kalij</b>	42 mg

Izvor: Jyotsna (2017.)

#### 1.1.3. Kemijski sastav pšenične trave (*Triticum aestivum* L.)

Glavni kemijski sastojci prisutni u *Triticum aestivum* su prikazani u tablici ispod, što prikazuje da je pšenična trava bitna za jačanje imunološkog sustava i metabolizma.

**Tablica 3.** Kemijski sastav pšenične trave (*Triticum aestivum* L.)

KEMIJSKI SASTAV	
<b>Vitamini</b>	A, B(1, 2, 3, 5, 6, 8, 12), C, E, K
<b>Minerali</b>	Sumpor, natrij, aluminij, bakar, kalcij, jod, fosfor, magnezij, kalij, željezo, cink
<b>Ostale specifične komponente</b>	Aminokiseline: asparaginska kiselina, treonin, asparagin, glutamin, prolin, glicin, arginin, lizin, triptofan, serin, gluko-protein (P4D1), askorbinska kiselina, klorofil, karoten i bioflavonoidi kao apigenin

Izvor: modificirano iz Rana i sur. (2011.)

## 1.2. Antioksidativna aktivnost i antioksidansi

Antioksidansi su molekule koje umanjuju sposobnost oksidacije drugih molekula. Glavna karakteristika antioksidansa je sprječavanje stvaranja slobodnih radikala. Flavonoidi mogu djelovati kao antioksidansi na nekoliko načina. Zaštitna uloga flavonoida u biološkim sustavima pripisuje se njihovoj sposobnosti sparivanja („hvatanja“) elektrona slobodnog radikala<sup>1</sup>, kelatnog vezanja iona prijelaznih kovina ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , i  $\text{Mg}^{2+}$ ), aktiviranja antioksidacijskih enzima i inhibiranja oksidaza. (Kazazić, 2004.) Slobodni radikali oksidiraju nukleinske kiseline, proteine, lipide te se kao posljedica razvijaju degenerativne bolesti.

Antioksidativni spojevi igraju važnu ulogu kao zaštitni faktor zdravlja. Smanjuju rizik pojave kroničnih bolesti uključujući rak i bolesti kardio-vaskularnog sustava. Žitarice se ubrajaju u primarne izvore antioksidanasa koji se prirodno pojavljuju. Najčešći oblici su vitamin C, vitamin E, karoteni, polifenoli i fenolne kiseline. Antioksidansi u soku pšenične trave kao što su (pro) vitamini C, E, b-karoten i cink odgovorni su za antialergijsko i anti-astmatično liječenje, dok su bioflavonoidi zaslužni za liječenje različitih kliničkih bolesti, poput IBD-a<sup>2</sup> i kao opći detoksikant (Padalia i sur., 2010.)

### 1.2.1. Fenolni spojevi

Fenolni spojevi su sveprisutno distribuirani u većini biljnih tkiva, uključujući jestive dijelove kao što su voće, sjemenke, lišće, stabljike i korijenje (De La Rosa i sur., 2019.). Do sada ih je otkriveno oko 8000, a obuhvaćaju jednostavne spojeve poput fenolnih kiselina, ali i velike polimerizirane spojeve kao što su kondenzirani tanini. Sastoje se od jednog ili više aromatih prstenova koji posjeduju jednu ili više hidroksilnih grupa (Dai i Mumper, 2010.). Ispitivana svojstva flavonoida koji uklanjaju slobodne radikale omogućila su karakterizaciju glavnih fenolnih komponenti prirodnih fitokemikalija kao antioksidanasa. Fenolni spojevi djeluju kao antioksidansi na brojne načine, jedan od njih je zbog prisutnosti hidroksilnih skupina u molekuli fenola koje su dobri proton donori koji mogu reagirati s reaktivnim kisikom i dušikom te na taj način spriječiti nastanak novih radikala (Payá i sur. 1992.).

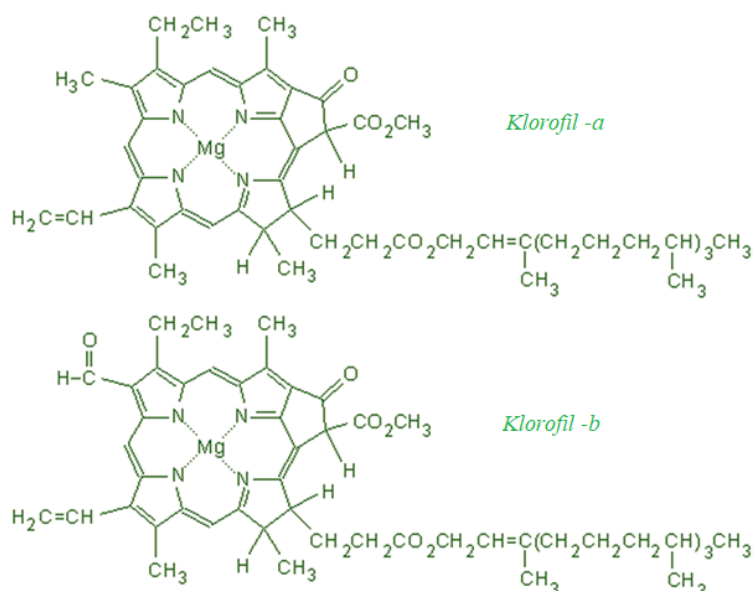
---

<sup>1</sup> Slobodni radikali su kemijski nestabilni i vrlo reaktivni spojevi. (Žanetić i Gugić, 2006.)

<sup>2</sup> Inflammatory bowel disease; upalna bolest crijeva

### 1.2.2. Klorofili

Kao antioksidansi, imaju veliku ulogu u prehrambenoj industriji. Osnovna uloga kloroplastnih pigmenata, u prvom redu klorofila, je apsorpcija svjetlosne energije koja se transformira prilikom procesa fotosinteze u kemijsku energiju. Klorofili su jedini prirodni zeleni pigmenti koji se biosintetiziraju u velikim količinama, iako njihova upotreba, kao bojila, ima nekoliko nedostataka zbog njihove nestabilnosti i podložnosti oksidativnim procesima (Roca i sur., 2016.). Prisutnost klorofila je pokazatelj prirodnog i zdravog stanja dok je njihova odsutnost česti simptom zrelosti biljnog tkiva. Poznati klorofili su –a, -b, -c, -d, i –e, ali više biljke sadrže samo klorofil –a ( $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ ) i klorofil –b ( $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ ) (Slika 2.) koji se nalaze u tilakoidima kloroplasta.



**Slika 2.** Struktura klorofila a i b

Izvor: <https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-Chlorophyll-a-and-Chlorophyll-b>

Pšenična trava (*Triticum aestivum* L.) sadrži klorofil i flavonoide u značajnoj količini. Sadrži i vitamine kao što su vitamin A, vitamin C i vitamin E te minerale poput željeza, kalcija i magnezija. Pokazalo se da klorofil povoljno djeluje na biosintezu crvenih krvnih stanica, liječi anemiju, normalizira krvni tlak dilatacijom krvnih žila. Stvara nepovoljno okruženje za rast bakterija u tijelu i stoga je učinkovit u povećanju otpornosti organizama na bolesti (Aate i sur., 2017.).

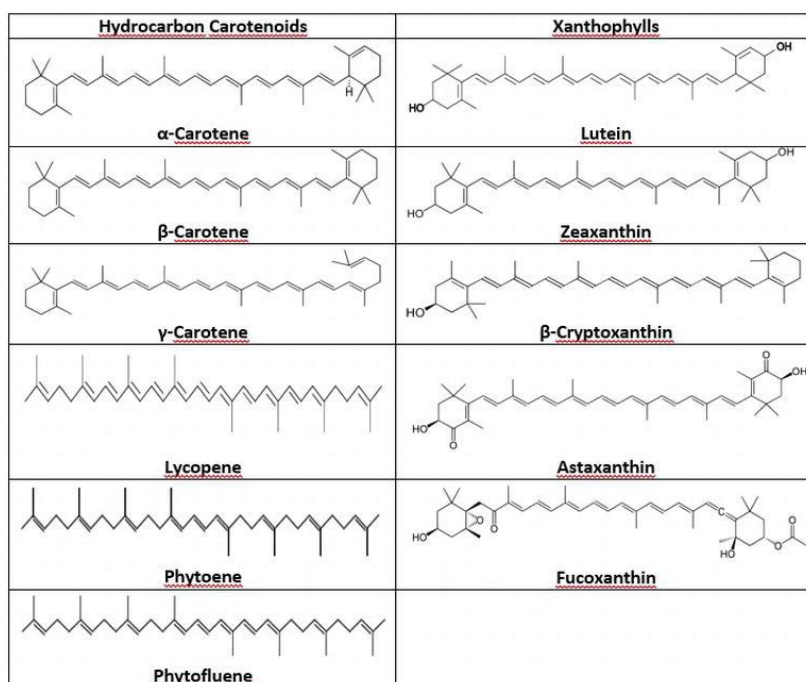
Klorofil je topljiv u masnim česticama koje se putem limfnog sustava apsorbiraju izravno u krv. Drugim riječima, kada se te molekule apsorbiraju u probavnom sustavu, one se



„transformiraju“ u ljudsku krv, koja prenosi hranjive tvari u svaku stanicu tijela. Klorofil prisutan u pšeničnoj travi može kemijski neutralizirati elemente štetne za ljudski organizam, (Rana i sur., 2011.).

### 1.2.2. Karotenoidi

Karotenoidi su bitna komponenta svih fotosintetskih organizama zbog svojih eminentnih fotoprotektivnih i antioksidativnih svojstava (Lohr, 2009.). Najpoznatiji od karotena je  $\beta$ -karoten, provitamin vitamina A. Prvi korak u biosintezi karotenoida je kondenzacija dviju molekula geranilgeranil pirofosfata (GGPP) i stvaranje bezbojnog fitoena uz pomoć enzima fitoen sintaze. Pripadaju izoprenoidima i njihova osnovna struktura se sastoji od C5 izoprena. Drugi naziv izoprenoida je terpenoidi. Terpeni spadaju u najveću klasu sekundarnih metabolita i većinom su ciklične komponente s 15, 20 ili više C atoma, ali u osnovi se sastoje od 5C izoprenskih jedinica koje se međusobno okupljaju na tisuće načina.



**Slika 3.** Karotenoidi s različitim terminalnim skupinama

Izvor: <https://www.intechopen.com/books/carotenoids/the-biochemistry-and-antioxidant-properties-of-carotenoids>

Hidroksilacijom beta-karotena nastaje zeaksantin (ksantofili), od kojega može nastati violaksantin. Karoteni i ksantofili osim funkcije pratećih pigmenta klorofilima fotosustavima kloroplasta i apsorpcije svjetlosne energije, djeluju i kao antioksidansi

vezivanjem slobodnog kisika podrijetlom iz fotolize vode, čime sprječavaju nastajanje ROS i fotodestrukciju klorofila, odnosno oksidacijska oštećenja drugih funkcionalnih komponenti u kloroplastima.

### 1.2.3. Vitamin C

L-treo-heks-2-enon-1,4-lakton, poznat i kao askorbinska kiselina glavni je vodotopivi vitamin u biološkim sustavima, gdje služi kao donor elektrona za razne fiziološke procese. Vitamin C je možda najpoznatiji po svojoj ulozi primarnog antioksidansa male molekule u vodenim sredinama (Fisher-Wellman i Bloomer, 2009.). Stoga, svaki učinak vitamina C može biti najizraženiji u uvjetima kada je oksidativni stres povišen. Mnoge infekcije dovode do aktivacije fagocita, koji oslobađaju oksidirajuće agense koji se nazivaju reaktivne vrste kisika (ROS) (Carr i Lykkesfeldt, 2017.). Vitamin C je lako dostupan i ima visoku bioraspoloživost. Podložan je oksidaciji, nestabilan i lako gubi svojstva prokuhavanjem i skladištenjem te pod utjecajem lužnate sredine, naročito uz prisustvo bakra i željeza. Miyaji i sur. (2015.) su identificirali PHT4;4<sup>3</sup> kao transportni protein koji omogućava da se vitamin C može transportirati i da se nalazi u ovojnici kloroplasta. Uklanjanjem dovodi do smanjenja sadržaja vitamina C u kloroplastima i povećane fotoinhibicije uslijed velike količine svjetlosti, što potvrđuje njegovu značajnu ulogu u primarnim reakcijama asimilacije organske tvari.

### 1.3. Cilj istraživanja

Ovo istraživanje je imalo slijedeće ciljeve:

1. Utvrditi i usporediti utjecaj broja otkosa na antioksidativni status u biljnom ekstraktu lista pšenične trave.
2. Laboratorijskim analizama utvrditi ukupnu antioksidativnu aktivnost (DPPH), sadržaj biljnih pigmenata, vitamina C, fenola i flavonoida u soku lista.
3. Utvrditi postoji li razlika između biljnih ekstrakata različitih genotipova *T. aestivum*, u pokazateljima antioksidativnog statusa i nutritivne vrijednosti.

---

<sup>3</sup> Protein; Anorganski fosfat i transporter aniona

Osnovna hipoteza istraživanja je bila da će broj otkosa i genotip utjecati na sadržaj kloroplastnih pigmenata, vitamina C, fenola i flavonoida te ukupan antioksidativni status. Cilj provedenog pokusa je utvrditi utjecaj genotipa i otkosa na funkcionalna svojstva pšenične trave (*Triticum aestivum* L., sorta Katarina) i njezinog divljeg srodnika (*T. sphaerococcum*).

## 2. PREGLED LITERATURE

Chomchan i sur. (2016.) su istraživali specifične fenolne profile i antioksidacijsku aktivnost rižinog soka i usporedili je sa sokom pšenične trave. Sjemenke riže (*Oryza sativa* L. cv. Chainat 1) i pšenice (*Triticum aestivum* L. cv. Fang60) su bile 24 sata imbibirane u vodi kako bi stimulirali klijanje. Nakon ispiranja vodom, sjemenke su stavljene u posudu za sadnju s vlagom i ostavljene da kliju 48 sati. Proklijale sjemenke uzgajane su hidroponski pod prirodnim svjetlom s prosječnom dnevnom/noćnom temperaturom od 25 °C, relativnom vlagom zraka  $65 \pm 8,5 \%$  u djelomično zatvorenom uzgojnom sustavu. Biljke su zalijevane dva puta na dan, a žetva je bila 8. dana. Uzorci su ekstrahirani u vodenom mediju te pročišćeni centrifugiranjem. Za ispitivanje sadržaja klorofila, karotenoida i askorbinske kiseline korišteni su supernatanti. U ekstraktima su analizirane glavne skupine fitokemikalija, fenoli i specifični fenolni spojevi i utvrđena je antioksidativna aktivnost metodama DPPH, ABTS, FRAP, FCA i HRSA.

**Table 3.** Bioactive compounds content of ricegrass and wheatgrass juice

	Unit	Ricegrass	Wheatgrass
Total chlorophyll	mg/g FW	$0.427 \pm 0.005^b$	$2.827 \pm 0.003^a$
Chlorophyll a	mg/g FW	$0.351 \pm 0.003^b$	$2.135 \pm 0.031^a$
Chlorophyll b	mg/g FW	$0.136 \pm 0.003^b$	$1.112 \pm 0.015^a$
Carotenoids	mg/g FW	$0.063 \pm 0.002^a$	$0.051 \pm 0.012^b$
Ascorbic acid	mg/ g FW	$0.243 \pm 0.002^b$	$0.487 \pm 0.020^a$
Total extractable phenolic	mg PYE/ g extract	$31.44 \pm 0.44^b$	$33.74 \pm 0.34^a$

Each value was expressed as the mean  $\pm$  standard deviation (n=3). Different letters in the same row indicated significant differences ( $p < 0.05$ ). FW: fresh weight. PYE: pyrogallol equivalent.

### **Slika 4.** Sadržaj bioaktivnih spojeva rižine trave i pšenične trave

(Chomchan i sur., 2016.)

Podaci potvrđuju da pšenična trava u odnosu na rižu sadrži višu razinu proteina i masti. Oba soka sadrže fenole, tanine i saponine, ali ne i alkalioide, flavonoide i sterole. U ekstraktu soka pšenične trave utvrđena je viša razina askorbinske kiseline i klorofila. Sadržaj bioaktivnih spojeva koji se nalaze u ekstraktu soka sorte pšenice Fang60 sadrži veću razinu ukupnog klorofila, klorofila -a i klorofila -b od ekstrata soka sorte riže Chainat 1. Također, utvrđen je visok sadržaj aminokiselina prisutnih u pšeničnom sjemenu jer je poznato da aminokiseline igraju glavnu ulogu u biosintezi klorofila.

Özköse i sur. (2016.) su proveli istraživanje na šest travnih vrsta iz porodice *Poaceae* (mlada trava). Utvrđen je utjecaj gnojidbe i otkosa na neke kemijske sastojke i antioksidativni potencijal ekstrakta. Analizirana je antioksidativna aktivnost DPPH metodom, elementarni sastav, ukupni klorofili, karotenoidi, tokoferol, vitamin C i ukupni fenoli.

Table 4. Concentration of some bioactive compounds and DPPH radical scavenging activity of wheatgrass and turfgrass juice samples

Parameter	Genotype	With fertiliser		Without fertiliser	
		First cut	Second cut	First cut	Second cut
Total phenolics (mg GAE/L)	<i>T. durum</i> L. (CV1)	334±42 <sup>a</sup>	359±31 <sup>a</sup>	443±35 <sup>a</sup>	422±45 <sup>a</sup>
	<i>T. aestivum</i> L. (CV2)	293±37 <sup>bc</sup>	289±24 <sup>c</sup>	324±31 <sup>b</sup>	342±35 <sup>c</sup>
	<i>mixed Triticum wheat</i> (CV3)	335±34 <sup>a</sup>	364±43 <sup>ab</sup>	346±40 <sup>b</sup>	376±35 <sup>b</sup>
	<i>L. perenne</i> (CV4)	288±29 <sup>c</sup>	299±24 <sup>abc</sup>	214±29 <sup>c</sup>	398±41 <sup>b</sup>
	<i>L. perenne</i> (CV5)	316±33 <sup>ab</sup>	321±43 <sup>abc</sup>	166±19 <sup>d</sup>	347±37 <sup>c</sup>
	<i>F. arundinaceae</i> (CV6)	286±22 <sup>d</sup>	322±45 <sup>bc</sup>	191±19 <sup>d</sup>	392±32 <sup>b</sup>
Total flavonoids (mg/L)	<i>T. durum</i> L. (CV1)	447.5±33.4 <sup>b</sup>	324.7±30.7 <sup>ab</sup>	496.5±38.5 <sup>bc</sup>	383.9±39.3 <sup>b</sup>
	<i>T. aestivum</i> L. (CV2)	356.2±25.6 <sup>b</sup>	302.7±22.8 <sup>ab</sup>	598.7±30.2 <sup>ab</sup>	568.6±47.4 <sup>a</sup>
	<i>mixed Triticum wheat</i> (CV3)	666.2±41.9 <sup>a</sup>	399.2±27.8 <sup>a</sup>	748.2±44.3 <sup>a</sup>	674.8±43.1 <sup>a</sup>
	<i>L. perenne</i> (CV4)	175.0±20.4 <sup>c</sup>	170.6±12.6 <sup>b</sup>	312.3±34.8 <sup>cd</sup>	302.6±32.6 <sup>b</sup>
	<i>L. perenne</i> (CV5)	139.8±21.3 <sup>c</sup>	137.5±21.3 <sup>b</sup>	215.6±22.7 <sup>d</sup>	300.8±34.0 <sup>b</sup>
	<i>F. arundinaceae</i> (CV6)	200.6±22.1 <sup>c</sup>	173.1±25.9 <sup>b</sup>	427.92±30.6 <sup>bcd</sup>	375.3±25.6 <sup>b</sup>
Vitamin C (mg/L)	<i>T. durum</i> L. (CV1)	33.6±4.3 <sup>b</sup>	36.2±4.0 <sup>b</sup>	31.9±4.1 <sup>d</sup>	36.8±2.9 <sup>b</sup>
	<i>T. aestivum</i> L. (CV2)	37.6±5.3 <sup>b</sup>	36.4±3.9 <sup>b</sup>	38.9±3.5 <sup>c</sup>	37.1±4.2 <sup>b</sup>
	<i>mixed Triticum wheat</i> (CV3)	48.8±4.2 <sup>a</sup>	50.4±4.4 <sup>a</sup>	37.6±3.3 <sup>c</sup>	32.6±3.3 <sup>b</sup>
	<i>L. perenne</i> (CV4)	27.3±3.7 <sup>c</sup>	33.5±3.8 <sup>b</sup>	45.9±4.5 <sup>ab</sup>	52.8±3.5 <sup>a</sup>
	<i>L. perenne</i> (CV5)	35.8±3.1 <sup>b</sup>	36.2±3.7 <sup>b</sup>	46.9±3.8 <sup>a</sup>	50.6±4.0 <sup>a</sup>
	<i>F. arundinaceae</i> (CV6)	33.2±4.0 <sup>b</sup>	34.7±3.2 <sup>b</sup>	40.2±3.0 <sup>bc</sup>	57.3±3.6 <sup>a</sup>
Total chlorophylls (mg/100mL)	<i>T. durum</i> L. (CV1)	29.6±0.4 <sup>b</sup>	25.0±0.5 <sup>ab</sup>	33.3±0.6 <sup>ab</sup>	28.3±0.4 <sup>c</sup>
	<i>T. aestivum</i> L. (CV2)	27.9±0.5 <sup>b</sup>	25.5±0.5 <sup>b</sup>	27.0±0.4 <sup>b</sup>	25.4±0.4 <sup>c</sup>
	<i>mixed Triticum wheat</i> (CV3)	42.1±0.8 <sup>a</sup>	27.4±0.7 <sup>ab</sup>	39.4±0.7 <sup>ab</sup>	28.3±0.5 <sup>c</sup>
	<i>L. perenne</i> (CV4)	46.2±0.8 <sup>a</sup>	37.8±0.4 <sup>a</sup>	44.6±0.7 <sup>a</sup>	43.3±0.5 <sup>ab</sup>
	<i>L. perenne</i> (CV5)	28.6±0.6 <sup>b</sup>	27.4±0.6 <sup>b</sup>	36.6±0.6 <sup>ab</sup>	31.7±0.6 <sup>bc</sup>
	<i>F. arundinaceae</i> (CV6)	48.8±0.5 <sup>a</sup>	38.1±0.4 <sup>a</sup>	40.7±0.5 <sup>a</sup>	46.8±0.8 <sup>a</sup>
DPPH (% inhibition)	<i>T. durum</i> L. (CV1)	94.1±9.7 <sup>a</sup>	94.4±7.2 <sup>a</sup>	92.6±8.5 <sup>a</sup>	93.7±10.0 <sup>a</sup>
	<i>T. aestivum</i> L. (CV2)	94.4±10.5 <sup>a</sup>	90.3±8.3 <sup>a</sup>	91.4±8.3 <sup>a</sup>	93.5±8.6 <sup>ab</sup>
	<i>mixed Triticum wheat</i> (CV3)	93.6±9.0 <sup>a</sup>	94.4±10.4 <sup>a</sup>	93.5±7.7 <sup>a</sup>	91.7±7.5 <sup>c</sup>
	<i>L. perenne</i> (CV4)	74.5±8.3 <sup>b</sup>	62.4±9.1 <sup>b</sup>	92.8±5.8 <sup>a</sup>	93.1±9.0 <sup>ab</sup>
	<i>L. perenne</i> (CV5)	92.2±11.4 <sup>a</sup>	92.5±7.5 <sup>a</sup>	90.9±8.0 <sup>b</sup>	91.8±8.4 <sup>ab</sup>
	<i>F. arundinaceae</i> (CV6)	93.7±8.5 <sup>a</sup>	92.8±10.2 <sup>a</sup>	85.2±7.4 <sup>c</sup>	92.2±8.3 <sup>b</sup>

\*Mean value±standard deviation

a, b, c, d, e: Mean values of the same harvest date and the same crop year with a different superscript differ significantly ( $P \leq 0.05$ ) [comparison between cultivars]

\*Comparison between fertiliser applications and cutting time were not shown in table, but related information was given in the text.

### Slika 5. Koncentracija bioaktivnih spojeva i DPPH vrijednost

(Özköse i sur., 2016.)

Na navedena svojstva ispitano je 6 vrsta iz porodice trava: tvrda pšenica (*T. Durum* cv. Cesit 1252), obična pšenica (*T. aestivum* cv. Dagdas 94), mješana pšenica – 50 % tvrde i 50 % obične (*T. durum* cv. Cesit 1252, *T. aestivum* cv. Dagdas 94), engleski ljulj (*L. perenne* cv. Apple GL), engleski ljulj (*L. perenne* cv. domaća), trstikasta vlasulja (*F. Arundiacea* cv. Barlexas 11). Biljke su uzgajane u posudama napunjenim tresetom s dvije razine gnojidbe, sa i bez dodatka gnojiva. Tijekom pokusa biljke su navodnjavane svaki dan.

Ukupni fenoli, flavonoidi, proteinska aktivnost i DPPH bili su viši u ekstraktu soka obične pšenice Dagdas 94 u usporedbi s ostalim ekstraktima. Sadržaj klorofila u ekstraktima je bio sličan dok je najveći sadržaj vitamina C utvrđen u ekstraktu soka pripremljenog miješanjem

pšenice Cesit 1252 i Dagdas 94. Obična pšenica Dagdas 94 je imala najvišu razinu ukupnog sadržaja fenola, dok su ostale sorte imale gotovo polovicu fenola u usporedbi sa *Triticum* sorte. Sok spomenute mješavine pšenica odlikovao se najvećom koncentracijom flavonoida, klorofila, karotenoida i proteina. Sadržaj vitamina C, ukupnih fenola, te DPPH vrijednost su prosječno bili viši u sokovima iz uzoraka drugog otkosa.

Kaushal (2017.) provodi eksperiment s utjecajem dana otkosa na antioksidativnu aktivnost kako bi se utvrdilo najbolje vrijeme za konzumaciju. Pšenična trava je uzgajana u laboratorijskim uvjetima, a uzorci su analizirani svaki dan do 15. dana nakon klijanja. Rezultati su pokazali da se antioksidativna aktivnost povećava do 9. dana te se nakon toga postupno smanjuje.

**Table 1: Day wise changes in total flavonoids content and antioxidant activity in wheatgrass juice. data are presented as mean  $\pm$  SD (n=3).**

Days	Falvonoid content ( $\mu\text{M GE ml}^{-1}$ )	Antioxidant activity (%)
1	3.45 $\pm$ 0.23	56.2 $\pm$ 2.12
2	3.98 $\pm$ 0.21	59.8 $\pm$ 2.01
3	4.51 $\pm$ 0.33	65.0 $\pm$ 2.67
4	4.56 $\pm$ 0.54	66.8 $\pm$ 3.21
5	5.87 $\pm$ 0.67	71.4 $\pm$ 2.56
6	7.89 $\pm$ 0.45	82.2 $\pm$ 2.78
7	12.67 $\pm$ 1.23	86.8 $\pm$ 4.67
8	16.24 $\pm$ 2.21	91.2 $\pm$ 2.51
9	23.67 $\pm$ 1.76	98.8 $\pm$ 4.16
10	22.34 $\pm$ 2.12	96.6 $\pm$ 3.32
11	22.11 $\pm$ 1.45	94.1 $\pm$ 3.61
12	18.98 $\pm$ 2.11	87.7 $\pm$ 5.43
13	17.91 $\pm$ 1.34	81.6 $\pm$ 2.67
14	17.34 $\pm$ 2.17	80.8 $\pm$ 2.11
15	17.29 $\pm$ 1.56	78.7 $\pm$ 2.42

**Slika 6.** Količina ukupnih flavonoida i aktioksidativne aktivnosti po danima

(Kaushal, 2017.)

Sutar-Kapashikar i sur. (2018.) su proveli istraživanje sadržaja fenola u ekstraktu pšenične trave kvalitativnom i kvantitativnom analizom. Cilj je bio ispitati utjecaj dvije različite metode ekstrakcije, metoda po Soxhletu i metoda maceracije odnosno usitnjavanja svježeg uzorka, na sadržaj fenola u ekstraktu pšenične trave. U oba slučaja za ekstrakciju fenola je korišten metanol.

Table 1: Phenolic content in *Triticum Aestivum*

Sr. No.	Metho ds	Qualitative Analysis	Quantitative Analysis
1	Soxhlet apparatus	Present	0.50 mg/gm
2	Mortar and pestle	Present	0.4042 mg/ml

**Slika 7.** Sadržaj fenola u pšeničnoj travi  
(Sutar-Kapashikar i sur., 2018.)

Količina fenola u ekstrakciji pomoću Soxhleeta je iznosila 0,50 mg/g, a pri usitnjavanju maceriranjem iznosila je 0,04 mg/mL.

Zendehbad i sur. (2014.) su ispitivali utjecaj različitih otapala, metanola i kloroforma, na ekstrakciju fenola i flavonoida, antioksidativnu aktivnost i sposobnost uklanjanja H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u soku pšenične trave.

Table 1: The values of flavonoids and total polyphenols of the chloroform and methanol extracts. All the values are done in triplicates. The concentration is expressed in µg/mL and in value±SD

	Wheat grass		
	Polyphenols		Flavonoids
	Concentration	% Phenols	Concentration
Chloroform	0.3070±0.09	12	40.420±0.13
Methanol	1.0966±0.09	44	22.873±0.05

SD: Standard deviation

**Slika 8.** Sadržaj flavonoida i ukupnih polifenola ekstrakcijom kloroformom i metanolom  
(Zendehbad i sur., 2014.)

U metanolu je ekstrahirano je 44 % fenola dok je kloroformom ekstrahirano samo 12 %. Ukupni flavonoidi bili su viši pri ekstrakciji kloroformom u usporedbi s frakcijom metanolom (Slika 7.). Frakcija metanol je pokazala snažnu DPPH aktivnost (IC<sub>50</sub> 4,258 ± 0,54 min) u odnosu na pozitivnu kontrolu s askorbinskom kiselinom, koja je pokazala 3,3266 ± 0,38 min. DPPH aktivnost kloroformske frakcije bila je visoka (IC<sub>50</sub> 5,217 ± 0,52 min). Aktivnost neutralizacije vodikovog peroksida u ekstraktima s različitim otapalima bila je: kontrola > metanol > kloroform.

Anwar i sur. (2015.) su proveli istraživanje procjene nutritivnih vrijednosti soka pšenične trave u laboratorijskim uvjetima i na otvorenom polju u dva otkosa. Određeni su proteini, sadržaj klorofila, sadržaj minerala i sadržaj aminokiselina kao i pojedinih fitokemikalija. Pšenična trava uzgajana u laboratorijskim uvjetima imala je veći sadržaj proteina u usporedbi s onom uzgajanom u vanjskim uvjetima dok je za sadržaj klorofila bilo obrnuto, a naročito je bio veći u drugom otkosu. Sadržaj mineralnih elemenata je veći pri uzgoju na otvorenom polju, osim magnezija. Od aminokiselina asparaginska kiselina je najzastupljenija pri oba načina uzgoja. Ukupne esencijalne aminokiseline povećale su se u uvjetima uzgoja na otvorenom polju i u prvom i u drugom otkosu.

**Table 4. Effect of growing locations and number of cutting on protein and chlorophyll contents of wheatgrass juice**

Location	Cutting	Chlorophyll (mg/ ml)	Protein			
			g/100 ml	% DRI of 100 ml of grass juice		
				Male	Female	Children
Laboratory	First cut	0.223	3.03	5.41	6.59	15.95
	Second cut	0.138	3.39	6.05	7.37	17.84
	First cut	0.424	2.62	4.68	5.70	13.79
Open field	Second cut	0.466	2.01	3.60	4.38	10.60

**Slika 9.** Utjecaj uzgojnih mjesta i broj otkosa na sadržaj proteina i klorofila u soku pšenične trave (Anwar i sur., 2015.)

Wangcharoen i Phimphilai (2016.) su istraživali ekstrakte soka tri sorte riže (Jasmina, Sukhothai 1 i Sukhothai 2) i te po jednu sortu pšenice i ječma. Pripremljen je ekstrakt soka riže, pšenice i ječma te čuvan mjesec dana na sobnoj temperaturi nakon čega su provedene kemijske analize.

**Table 1** Chlorophyll content, total phenolic content (TPC) and antioxidant activities (ABTS and FRAP) of 5 processed grass drinks (Mean  $\pm$  SD)

Grass drinks	Chlorophyll ( $\mu$ g/200 mL)	TPC (mg Gallic acid equivalent/200 mL)	Antioxidant activities	
			ABTS (mg Vitamin C equivalent/200 mL)	FRAP (mg FeSO <sub>4</sub> equivalent/200 mL)
Rice				
Jasmine	286 <sup>b</sup> $\pm$ 8	10.50 <sup>d</sup> $\pm$ 1.06	35.18 <sup>a</sup> $\pm$ 0.74	22.62 <sup>a</sup> $\pm$ 0.62
Sukhothai 1	82 <sup>c</sup> $\pm$ 2	18.92 <sup>c</sup> $\pm$ 0.38	25.44 <sup>b</sup> $\pm$ 0.64	16.00 <sup>b</sup> $\pm$ 0.40
Sukhothai 2	128 <sup>c</sup> $\pm$ 8	23.04 <sup>b</sup> $\pm$ 0.46	34.87 <sup>a</sup> $\pm$ 0.80	23.70 <sup>a</sup> $\pm$ 0.50
Wheat	90 <sup>d</sup> $\pm$ 2	5.60 <sup>c</sup> $\pm$ 0.44	22.15 <sup>c</sup> $\pm$ 0.54	10.26 <sup>c</sup> $\pm$ 0.16
Barley	958 <sup>a</sup> $\pm$ 4	26.14 <sup>a</sup> $\pm$ 0.52	17.88 <sup>d</sup> $\pm$ 0.62	5.66 <sup>d</sup> $\pm$ 0.22

a,b,c,d Means with different letters in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ )

**Slika 10.** Sadržaj klorofila, ukupni fenoli (TPC) i antioksidativne aktivnosti (Wangcharoen i Phimphilai, 2016.)

Ekstrakt soka ječma je sadržavao četiri puta veću količinu klorofila u usporedbi s ekstraktima rižinih klijanaca i deset puta veću količinu u usporedbi sa pšeničnom travom. Utvrđen je



najveći sadržaj fenola kod ječma i riže sorte Jasmine koja je ujedno imala i najveću antioksidativnu aktivnost.

Ghumman i sur. (2017.) su analizirali kemijska i nutritivna svojstva soka i praha dobivenog iz pšenične trave i mahunarki, nakon dehidracije i smrzavanja. Prah pšenične trave (WP) je pokazao veću sposobnost uklanjanja radikala, veći sadržaj pepela i klorofila i manji sadržaj proteina u usporedbi s prahom mahunarki (PP). Prah od pšenične trave (WP) imao je znatno veći sadržaj kalija i magnezija u usporedbi s prahom dobivenim dehidracijom soka mahunarki (PJP) te najveću antioksidativnu aktivnost.

**Table 1** Physicochemical property of wheat and pulse shoots and juice

Wheat/pulse	Variety	Ash content (%)	Protein content (%)	Chlorophyll content (mg g <sup>-1</sup> )			Radical scavenging capacity (%)
				Chl a	Chl b	Total	
Wheat (WJP)	RAJ3765	18.51 ± 0.33 <sup>h</sup>	23.90 ± 0.00 <sup>b</sup>	3.086 ± 0.026 <sup>f</sup>	3.601 ± 0.030 <sup>g</sup>	6.69 ± 0.03 <sup>f</sup>	87.32 ± 0.13 <sup>g</sup>
	PBW343	16.97 ± 0.10 <sup>g</sup>	23.64 ± 0.00 <sup>ab</sup>	3.495 ± 0.041 <sup>h</sup>	3.559 ± 0.010 <sup>g</sup>	7.05 ± 0.03 <sup>g</sup>	87.52 ± 0.45 <sup>g</sup>
Lentil (LJP)	NIC14398	8.69 ± 0.10 <sup>d</sup>	47.40 ± 0.90 <sup>g</sup>	2.535 ± 0.022 <sup>d</sup>	0.343 ± 0.015 <sup>b</sup>	2.88 ± 0.01 <sup>c</sup>	44.90 ± 0.23 <sup>e</sup>
Chickpea (CJP)	PBG5	9.14 ± 0.07 <sup>e</sup>	37.25 ± 0.65 <sup>d</sup>	1.912 ± 0.016 <sup>c</sup>	2.705 ± 0.075 <sup>c</sup>	4.62 ± 0.09 <sup>d</sup>	10.10 ± 0.66 <sup>b</sup>
Wheat (WSP)	RAJ3765	9.69 ± 0.17 <sup>f</sup>	22.01 ± 0.52 <sup>a</sup>	0.069 ± 0.018 <sup>a</sup>	0.175 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.02 <sup>a</sup>	48.15 ± 0.45 <sup>e</sup>
	PBW343	7.55 ± 0.10 <sup>c</sup>	25.77 ± 0.56 <sup>c</sup>	2.962 ± 0.025 <sup>e</sup>	2.822 ± 0.033 <sup>d</sup>	5.78 ± 0.06 <sup>e</sup>	36.12 ± 0.87 <sup>d</sup>
Lentil (LSP)	NIC14398	6.89 ± 0.21 <sup>a</sup>	41.03 ± 0.76 <sup>f</sup>	0.072 ± 0.017 <sup>d</sup>	0.134 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.02 <sup>b</sup>	2.850 ± 0.11 <sup>a</sup>
Chickpea (CSP)	PBG5	7.09 ± 0.16 <sup>b</sup>	39.29 ± 0.28 <sup>e</sup>	1.467 ± 0.025 <sup>b</sup>	0.109 ± 0.002 <sup>a</sup>	1.58 ± 0.03 <sup>b</sup>	23.13 ± 0.49 <sup>c</sup>

Mean values ± Standard deviation; values with similar superscript in a column for each parameter do not differ significantly ( $P > 0.05$ ). WJP, wheat-grass juice powder; WSP, wheatgrass shoot powder; PJP, pulse juice powder.

### Slika 11. Fizičko-kemijska svojstva soka pšenične trave i mahunarki

(Ghumman i sur., 2017.)

Prah dobiven od klijanaca leće je sadržavao najnižu koncentraciju klorofila. Uočeno je da sorte pšenice i mahunarke s višim sadržajem pepela imaju i veći sadržaj klorofila. Veći kapacitet uklanjanja radikala kod pšenice može biti posljedica većeg sadržaja klorofila, kao i većeg sadržaja ferulične i sinapične kiseline.

Das i sur. (2012.) su istraživali učinke sušenja smrzavanjem i sušenjem vrućim zrakom i njihov utjecaj na ukupne fenole i antioksidativna svojstva 7 dana stare pšenične trave (*Triticum aestivum* L.). U kvantitativnoj analizi antioksidativnih komponenti, uzorci svježe pšenice su imali najveću količinu askorbinske kiseline i klorofila, ali najmanji iznos ukupnih flavonoida i fenola. Sadržaj askorbinske kiseline nakon obrade značajno se smanjio na 60 %, odnosno 54 %, u odnosu na svježe uzorke. Gregory (1996.) smatra da je gubitak askorbinske kiseline prvenstveno posljedica kemijske degradacije koja uključuje oksidaciju askorbinske kiseline u dehidroaskorbinsku kiselinu. Postupak zagrijavanja ubrzava proces oksidacije askorbinske kiseline. Rezultati pokazuju značajno povećanje ukupnih fenola bilo sušenjem smrzavanjem ili obradom pomoću vrućeg zraka. To je vjerojatno posljedica oslobađanja fenolnih spojeva tijekom ekstrakcije i smrzavanja gdje količina ukupnih

flavonoida značajno raste nakon smrzavanja ili obradom vrućim zrakom. Sadržaj klorofila se smanjuje s nižom temperaturom a isto tako i tijekom termičke obrade jer podliježe izomerizaciji.

Kulkarni i sur. (2006.) su pomoću metode FRAP (Ferric reducing antioxidant power) i DPPH proveli testove antioksidativne aktivnosti u vodenim i etanolnim ekstraktima pšenične trave uzgajane uz zalijevanje vodom iz slavine te vodom uz dodatak gnojiva na tlu bez, odnosno s dodanim gnojivom u trajanju od 6, 7, 8, 10 i 15 dana. Određena je lipidna peroksidacija i kapacitet neutralizacije reaktivnih kisikovih jedinki ORAC metodom. Sadržaj fenola i flavonoida se povećavao u svim uvjetima. Utvrđeno je da ekstrakti u etanolu imaju veći sadržaj fenola i flavonoida nego vodeni ekstrakti. Najveća vrijednost FRAP zabilježena je 15. dana rasta na tlu s dodanim hranivima, dok u vodenim ekstraktima nije utvrđen specifični rast s DPPH metodom za različite uvjete uzgoja niti za razdoblje rasta. U etanolnim ekstraktima je utvrđeno povećanje DPPH pri prethodno spomenutom načinu uzgoja te autori sugeriraju na uzgoj biljaka pšenične trave u tlu uz dodatak gnojiva.

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1. Biljni materijal

Istraživanje je provedeno na dva različita genotipa pšenice: *Triticum aestivum ssp. vulgare* L.) sorta hrvatskog podrijetla (Katarina) i divlji srodnik (*T. aestivum ssp. sphaerococcum*). Zrno pšenične trave Katarina je prije sjetve bilo u pripremi za naklijavanje. Zrno sorte Katarina korišteno u pokusu ustupljeno je od Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku, a zrno divljeg srodnika iz 2013./2014. godine, ustupljeno u sklopu projekta HRZZ „Stvaranje pšenice za budućnost – potraga za novim genima iz postojećih izvora“.

#### 3.2. Priprema zrna za naklijavanje

U staklenim bocama od 100 mL izvagano je 30 g zrna pšenice (*Triticum aestivum* L.) na laboratorijskoj vagi. Nakon vaganja, zrno je preliveno autoklaviranom vodom te je stavljeno na magnetnu miješalicu na 5 minuta. Nakon toga, voda je odlicena kroz plastično sito te je isti proces ponovljen još 2 puta. Nakon zadnjeg ispiranja vodom, zrno je stavljeno u staklene autoklavirane teglice, prekrivene mrežicama i okrenute naopako kako bi se ocijedio suvišak vode. Teglice sa zrnom su skladištene u tamnoj prostoriji. Kod pripreme zrna za naklijavanje, primjenjivan je isti postupak kod sva 3 otkosa.



**Slika 12.** Priprema zrna za naklijavanje (Josipa Rupčić)

### 3.3. Uzgoj pšenične trave (*Triticum aestivum* L.)

Nakon 48 sati, naklijana zrna su posijana u plitice podijeljena na tri dijela i korišten je Brill Bio, supstrat za kultivaciju. Zrno je ravnomjerno raspoređeno i prekriveno tankim slojem supstrata. Posijana pšenica je zalivena sa 100 mL vode i uzgajana u klima komori sa kontroliranim uvjetima sa temperaturnim režimom 20 °C, i fotoperiodom od 12 sati mraka i 12 sati osvjetljenja. Svaki dan do prve žetve, pšenica je zalijevana sa 100 mL vode.



**Slika 13.** Posijana pšenica u klima komori (Josipa Rupčić)

Prvi otkos je bio dvanaesti dan od postavljanja pokusa, a drugi četrnaesti dan nakon prvog otkosa, odnosno dvadesetišesti dan nakon stavljanja na naklijavanje. Rezana je na visinu od 2 cm od supstrata škarama koje su prije očišćene 70 %-tnim etanolom. Odrezani listovi su nakon toga izvagani na laboratorijskoj vagi kako bi se odredila ukupna masa lista (g). Kod pravljenja soka od pšenične trave, korišten je ručni sokovnik za pšeničnu travu (Wheatgrass BI-30). Nakon izdvajanja soka, vagana je masa soka za daljnju provedbu analiza.

### 3.5. Određivanje sadržaja klorofila i karotenoida

U određivanju sadržaja kloroplastnih pigmenata analiziran je biljni sok koji je prethodno izvagan u plastične epruvete od 15 mL s navojem. U epruvete je dodano malo praha  $\text{MgCO}_3$  (na vrh noža) radi neutralizacije kiselosti i 10 mL čistog acetona. Uzorci su homogenizirani na vrtložnoj miješalici (10-ak sekundi) dva puta u razmaku od 10 minuta, a nakon toga centrifugirani na 4000 RPM pri 4 °C u trajanju od 10 minuta. Automatskom pipetom su pipetirani supernatanti u kivetu od 2 mL te su na spektrofotometru mjerene apsorbancije na valnim duljinama 662, 644 i 440 nm. Aceton je korišten kao slijepa proba. Dobivene vrijednosti apsorpcije ( $A_{622}$ ,  $A_{644}$  i  $A_{440}$ ) uvrštene su u Holm-Wettsteinove jednadžbe za izračunavanje koncentracije pigmenata u  $\text{mg dm}^{-3}$  i to za klorofil a, klorofil b, ukupni sadržaj klorofila i karotenoida.

$$\text{Klorofil a} = 9,784 * A_{622} - 0,990 * A_{644}$$

$$\text{Klorofil b} = 21,426 * A_{644} - 4,65 * A_{622}$$

$$\text{Klorofil a+b} = 5,134 * A_{622} + 20,436 * A_{644}$$

$$\text{Karotenoidi} = 4,695 * A_{440} - 0,268 * (\text{klorofil a+b})$$

Dobivene vrijednosti su preračunate i izražene kao miligrami na gram svježe tvari ( $\text{mg g}^{-1}$  Sv. T.) uzevši u obzir odvagu soka biljnog ekstrakta i razrjeđenje.

### 3.6. Određivanje ukupnih fenola i razine flavonoida

Za određivanje ukupnih fenola po Folin-Ciocalteu-u korištene su stock otopina galne kiseline i zasićena otopina  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Za pripremu galne kiseline, u odmjerenoj tikvici od 100 mL otopljeno je 500 mg u 10 mL 96 % etanola te nadopunjeno s destiliranom vodom do oznake 100 mL. Priprema 100 g zasićene otopine  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  vrši se otapanjem u 400 mL destilirane vode te se otopina zagrijava do točke vrenja. Nakon hlađenja otopini je dodano par kristalića  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  te je nakon 24 sata otopina profiltrirana i nadopunjena destiliranom vodom do 500 mL. Na isti dan izdvajanja soka pšenične trave pipetirano je 100  $\mu\text{L}$  uzorka u epruvete te je dodano 1  $\mu\text{L}$  70 % etanola i promiješano. Uzorci su ostavljeni u hladnjaku 48 sati te nakon toga centrifugirani 20 minuta. 100  $\mu\text{L}$  od svake koncentracije standarda pipetirano je u plastične epruvete od 2 mL i dodano 1,50 mL destilirane vode i nakon toga dobro promiješano. Nakon dodatka 100  $\mu\text{L}$  Folin-Ciocalteu reagensa uzorci su ponovo promiješani. Nakon 5 minuta stajanja, u periodu od najmanje 30 sekundi, a najviše 8 minuta, dodano je 300  $\mu\text{L}$  zasićene otopine  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  te ponovo promiješano. Reakcijska smjesa je

inkubirana 60 minuta na 37 °C i nakon inkubacije je mjerena apsorbancija pri 765 nm. Koncentracija ukupnih fenola je izračunata pomoću jednadžbe pravca, korištenjem baždarnog dijagrama koji prikazuje ovisnost apsorbancije (A) o koncentraciji galne kiseline (mg GAE/g tvari).

Za određivanje sadržaja flavonoida u uzorcima, pipetirano je 100 µL pšeničnog soka koji je razrijeđen s 1000 µL 70 % etanola i spremljeno u hladnjak na 48 sati. Nakon 48 sati pipetirano 200 µL biljnog soka u plastične epruvete od 2 mL, dodano 100 µL AlCl<sub>3</sub> te 1700 µL 96 % etanola. Uzorci su promiješani kako bi se homogenizirali, te su ostavljeni da odstoje 60 minuta na sobnoj temperaturi. Apsorbancija je mjerena na spektrofotometru, u suženoj kvarcnoj kivetu na 415 nm valjne duljine.

### **3.8. Spektrofotometrijsko određivanje vitamina C**

Koncentracija vitamina C je određena metodom prema Roe i Kuetheru (1943.) uz dodatne izmjene. Za određivanje vitamina C pripremljene su 13,3 % TCA, otopina 2 % DNPH reagensa (2,4 dinitrofenilhidrazin) te stock otopina askorbinske kiseline (10 mg/100mL). Korištena je i 65 % sumporna kiselina.

100 µL biljnog soka je homogenizirano s 5700 µL destilirane vode i dobro promiješano. Otopina je odstojala 15 minuta i stavljena na centrifugu na 15 minuta pri brzini 3000 RCF na 4 °C kako bi se talog odvojio od soka, odnosno kako bi se biljni sok izbistrio. Uzorak se nakon toga odvojio u plastične epruvete od 2 mL. Za svaki uzorak prilikom pripreme potrebno je napraviti i slijepu probu za koju se koristit stock otopina askorbinske kiseline. Odvagano je 0,01 g askorbinske kiseline u tikvicu od 100 mL i nadopunjeno destiliranom vodom. Uzorci, slijepa proba i standardi su pipetirani prema tablici 4. Za standarde je pripremljena stock otopina od 10 mg askorbinske kiseline/100 mL dH<sub>2</sub>O od koje su pripremljena razrjeđenja s koncentracijama 0, 25, 50, 75, 100, 150, 200 µL stock otopine. Apsorbancija je nakon provedenih svih koraka za pripremu uzoraka očitana na 520 nm u kivetu od 1 cm. Kao standard nula je korišten čisti 70 % etanol. Mjerenje je obavljeno na 520 nm te je pomoću navedenih standarda izrađena baždarna krivulja iz koje je dobivena funkcija za izračun količine vitamina C. Dobivene vrijednosti koncentracije vitamina C u slijepim probama potrebno je oduzeti od vrijednosti dobivenih u uzorcima. Koncentracija vitamina C izražena je u µg/1000 µL biljnog soka.

**Tablica 4.** Modificirano iz metode prema Roe i Kuetheru (1943.)

Korak	Omjer/%	Kemikalija	Pipetiranje UZORAK ( $\mu$ L)	Pipetiranje SLJEPA PROBA ( $\mu$ L)	Standardi
1.	1:10; 1:20; 1:40	Ekstrat biljnog tkiva	100	100	Pipetira se askorbinska kiselina
2.		dH <sub>2</sub> O	225	225	
3.	13,3 %	TCA	100	100	100
4.	2 %	DNPH	75	/	75
5.	INKUBACIJA NA 37°C, trajanje 3 sata				
6.	2 %	DNPH	/	75	/
7.	65 %	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1000	1000	1000
Ukupni volumen za mjerenje			1500	1500	1500

### 3.9. Određivanje antioksidativnih aktivnosti

Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti provedeno je DPPH metodom prema Brand-Willamsu. Prije samog određivanja antioksidativne aktivnosti, potrebno je pripremiti DPPH reagens. Na analitičkoj vagi je odvagano 4 mg DPPH u 100 mL 96 % etanola. Pripremljena je stock otopina za standarde, koristeći 15 mg askorbinske kiseline otopljene u 100 mL destilirane vode.



**Slika 14.** Pipetiranje uzoraka za spektrofotometrijsko mjerenje antioksidativnih aktivnosti  
(Josipa Rupčić)

Pomoću askorbinske kiseline pripremljeni su standardi različitih koncentracija te su mjerene apsorbancije pri 520 nm odmah nakon dodavanja 1900  $\mu$ L DPPH reagensa i 100  $\mu$ L 70 % etanola ( $t_0$ ) i 30 minuta nakon dodavanja DPPH reagensa ( $t_{30}$ ). Iz biljnog soka pšenične trave su pripremljeni uzorci u četiri tehnička ponavljanja pipetiranjem 100  $\mu$ L (40, 60, 80, 100) u plastične epruvete od 2 mL, a zatim i DPPH reagens do volumena 2 mL. Nakon  $t_{30}$  mjerena je apsorbancija i izrađena krivulja te je koristeći jednadžbu pravca izračunato IC 50, odnosno 50 % inhibicije reakcije raspadanja DPPH reagensa.

#### **4. Analiza i obrada podataka**

Analize klorofila, karotenoida, fenola, flavonoida, vitamina C i antioksidacijske aktivnosti DPPH obuhvaćali su spektrofotometrijsko određivanje koncentracija. Mjerenje kloroplastnih pigmenata, vitamina C i antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom obavljena su na uređaju Varian Cary 50 UV-VIS Spectrophotometer uz programsku podršku Cary WinUV software, dok su apsorbance za fenole i flavonoide mjerene na uređaju UV Spectrophotometer Shimadzu UV-1800. Svi rezultati su obrađeni statističkim metodama obrade podataka pomoću SAS Software 9.1.3., programske podrške (2002.,-2003., SAS Institute Inc., Cary, USA) i Microsoft Excel Office 2007. Korišteni su sljedeći statistički testovi značajnosti utjecaja primjenjenih tretmana – F test i Fisher's LSD test (engl Least Significant Difference) i uobičajena statistička metoda analize varijance (ANOVA).



## 4. REZULTATI

U prosjeku za sve varijante mjerenja, F testom je utvrđen značajan utjecaj genotipa na razinu flavonoida ( $P = 0,0019$ ) i antioksidacijsku aktivnost ( $P = 0,0097$ ) te značajan utjecaj broja otkosa na fenole, vitamin C i antioksidacijsku aktivnost (Tablica 5.). U prosjeku za oba genotipa utvrđen je značajan utjecaj broja otkosa na fenole ( $P = 0,0002$ ), vitamin C ( $P < 0,0001$ ) i DPPH ( $P < ,0001$ ). Interakcija je značajno utjecala na sadržaj flavonoida ( $P = 0,0210$ ) i vitamina C ( $P < 0,0001$ ) (Tablica 5).

**Tablica 5.** Utjecaj genotipa i broja otkosa na antioksidativnu aktivnosti i antioksidanse

Varijante		Fenoli ( $\mu\text{g}$ GA/mL soka)	Flanovoidi ( $\mu\text{g}$ QC/mL soka)	Vitamin C ( $\mu\text{g}$ /1000 $\mu\text{L}$ soka)	DPPH (mg IC50%)
Genotip	Katarina	899	415 <sup>B</sup>	4,3	32,5 <sup>B</sup>
	<i>T. sphaerococcum</i>	878	487 <sup>A</sup>	4,5	38,6 <sup>A</sup>
	F test	0,10	15,59	0,72	9,44
	<i>P</i>	0,7567	0,0019	0,4114	0,0097
Otkos	1. Otkos	1064 <sup>A</sup>	450	6,2 <sup>A</sup>	28,6 <sup>B</sup>
	2. Otkos	712 <sup>B</sup>	452	2,6 <sup>B</sup>	42,5 <sup>A</sup>
	F test	28,05	0,02	237,65	50,63
	<i>P</i>	0,0002	0,8991	<.0001	<.0001
Genotip x otkos	F test	0,23	1,04	119,27	2,34
	<i>P</i>	0,6419	0,0210	<.0001	0,1520

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a, b, c</sup>  $P = 0,05$ , <sup>A, B, C</sup>  $P = 0,01$ ).

Prema LSD testu *T. sphaerococcum* ima veću koncentraciju flavonoida (487  $\mu\text{g}$  QC/mL soka), kao i značajno veću antioksidativnu aktivnost (38,6 mg IC50 %) u usporedbi sa sortom pšenice Katarina. Kod broja otkosa, u prosjeku za oba genotipa prvi otkos isticao se značajno većim sadržajem fenola (1064  $\mu\text{g}$  GA/mL soka) također i značajno većim sadržajem vitamina C (6,2  $\mu\text{g}$ /1000  $\mu\text{L}$  soka), dok je antioksidativna aktivnost bila značajno veća u drugom otkosu (42,5 mg IC50 %).

U prosjeku za sve varijante pokusa, F testom je utvrđen značajan utjecaj genotipa na omjer klorofila i karotenoida ( $P < 0,0001$ ), značajan utjecaj otkosa u omjeru klorofila i karotenoida ( $P = 0,0015$ ), također značajan utjecaj interakcije genotip x otkos kod klorofila a ( $P = 0,0030$ ), klorofila b ( $P = 0,0009$ ), klorofila a+b ( $P = 0,0021$ ) i karotenoida ( $P = 0,0007$ ).

**Tablica 6.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofil a + b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar).

Varijante		Kl a (mg/g soka)	Kl b (mg/g soka)	kl a+b (mg/g soka)	Kar (mg/g soka)	kl a/kl b	kl/kar
Genotip	Katarina	0,28	0,09 <sup>b</sup>	0,37	0,08	3,04	4,45 <sup>B</sup>
	<i>T. sphaerococcum</i>	0,3	0,10 <sup>a</sup>	0,40	0,08	2,99	4,82 <sup>A</sup>
	F test	3,07	5,17	3,63	0,00	1,71	45,02
	<i>P</i>	0,1051	0,0422	0,0810	0,9680	0,2155	<.0001
Otkos	1. Otkos	0,30	0,10	0,39	0,09 <sup>A</sup>	3,1 <sup>A</sup>	4,5 <sup>B</sup>
	2. Otkos	0,28	0,10	0,38	0,08 <sup>B</sup>	3,0 <sup>B</sup>	4,7 <sup>A</sup>
	F test	1,49	0,13	1,04	5,18	6,53	16,78
	<i>P</i>	0,2450	0,7297	0,3284	0,0420	0,0253	0,0015
Genotip x otkos	F test	13,68	19,16	15,32	20,17	3,65	3,50
	<i>P</i>	0,0030	0,0009	0,0021	0,0007	0,0801	0,8060

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a, b, c</sup>  $P = 0,05$ , <sup>A, B, C</sup>  $P = 0,01$ ).

U soku pšenične trave utvrđen je statistički značajno veći sadržaj klorofila b (0,10 mg/g soka) nego u soku *T. sphaerococcum* i značajno veći omjer klorofila i karotenoida (4,82). Također je utvrđen statistički značajno veći sadržaj karotenoida (0,09 mg/g soka) i veći omjer klorofila a i klorofila b (3,1) u prvom otkosu kao i značajno veći omjer klorofila i karotenoida u drugom otkosu (4,7).

Kod prvog otkosa, F testom je utvrđen značajan utjecaj genotipa na sadržaj flavonoida ( $P=0,0034$ ), vitamina C ( $P<0,0001$ ) te antioksidativni kapacitet ( $P=0,0002$ ) (Tablica 7.).

**Tablica 7.** Značajnost utjecaja genotipa na sadržaj flavonoida, vitamina C i DPPH u prvom otkosu

1. Otkos	Fenoli ( $\mu\text{g GA/mL soka}$ )	Flavonoidi ( $\mu\text{g QC/mL soka}$ )	Vitamin C ( $\mu\text{g /1000 } \mu\text{L soka}$ )	DPPH (mg IC50 %)
Katarina	1090	389,58 <sup>B</sup>	4,82 <sup>B</sup>	24,07 <sup>B</sup>
<i>T. sphaerococcum</i>	1038	510,31 <sup>A</sup>	7,54 <sup>A</sup>	33,08 <sup>A</sup>
F test	0,17	22,0	175,32	67,83
<i>P</i>	0,6947	0,0034	0,0001	0,0002

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a, b, c</sup>  $P = 0,05$ , <sup>A, B, C</sup>  $P = 0,01$ ).

LSD testom je utvrđeno da je u prvom otkosu pšenične trave *T. sphaerococcum* imao značajno veći sadržaj flavonoida (510,31  $\mu\text{g QC/mL soka}$ ), vitamina C (7,54  $\mu\text{g/1000 } \mu\text{L soka}$ ) i DPPH (33,08 mg IC50 %) u usporedbi sa sortom Katarina. Iako kod fenola nema značajne razlike, veća sadržaj je utvrđen kod sorte Katarina (1090  $\mu\text{g GA/mL soka}$ ).

Prema F testu, također je utvrđen značajan utjecaj genotipa na sadržaj karotenoida ( $P=0,0164$ ), te omjer klorofila i karotenoida ( $P=0,0008$ ), u prvom otkosu (Tablica 8.).

**Tablica 8.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofil a + b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u prvom otkosu

1. Otkos	Kl a (mg/g soka)	Kl b (mg/g soka)	kl a+b (mg/g soka)	Kar (mg/g soka)	kl a/kl b	kl/kar
Katarina	0,31	0,10	0,41	0,10 <sup>a</sup>	3,06	4,28 <sup>B</sup>
<i>T. sphaerococcum</i>	0,28	0,09	0,38	0,08 <sup>b</sup>	3,08	4,76 <sup>A</sup>
F test	2,26	3,56	2,54	10,88	0,40	38,99
<i>P</i>	0,1832	0,1083	0,1619	0,0164	0,5528	0,0008

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a, b, c</sup>  $P = 0,05$ , <sup>A, B, C</sup>  $P = 0,01$ ).

Prema LSD testu na razini značajnosti od 99 % u prvom otkosu utvrđen je značajno veći omjer klorofila i karotenoida kod *T. sphaerococcum* (4,76), dok je na razini značajnosti od 95 %, sadržaj karotenoida kod sorte Katarina (0,10 mg/g sok) bio značajno veći.

F testom je u soku pšenične trave kod drugog otkosa pšenične trave, utvrđen značajan utjecaj genotipa na sadržaj vitamina C ( $P=0,0014$ ) (Tablica 9.).

**Tablica 9.** Sadržaj flavonoida, vitamina C i DPPH u drugom otkosu

2. Otkos	Fenoli ( $\mu\text{g GA/mL}$ soka)	Flavonoidi ( $\mu\text{g QC/mL}$ soka)	Vitamin C ( $\mu\text{g /1000 }\mu\text{L}$ soka)	DPPH (mg IC50 %)
Katarina	706	440	3,78 <sup>A</sup>	41,00
<i>T. sphaerococcum</i>	717	464	1,46 <sup>B</sup>	44,02
F test	0,09	0,83	31,59	0,65
<i>P</i>	0,7742	0,3973	0,0014	0,4525

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a, b, c</sup>  $P = 0,05$ , <sup>A, B, C</sup>  $P = 0,01$ ).

Prema LSD testu veća vrijednost vitamina C je utvrđena u sorti Katarina (3,78  $\mu\text{L/1000 }\mu\text{L}$  soka), dok je kod *T. sphaerococcum* značajno niži (1,46  $\mu\text{g /1000 }\mu\text{L}$  soka).

U rezultatima drugog otkosa pšenice, utvrđena je značajan utjecaj genotipa na sadržaj klorofila a (kl a) ( $P=0,0117$ ), klorofila b (kl b) ( $P=0,0071$ ), klorofil a + b (kl a+b) ( $P=0,0096$ ), karotenoida (kar) ( $P=0,0220$ ), te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) ( $P=0,0158$ ) (Tablica 10.).

**Tablica 10.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofil a + b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u drugom otkosu

2. Otkos	Kl a (mg/g soka)	Kl b (mg/g soka)	kl a+b (mg/g soka)	Kar (mg/g soka)	kl a/kl b	kl/kar
Katarina	0,24 <sup>b</sup>	0,08 <sup>b</sup>	0,32 <sup>B</sup>	0,07 <sup>b</sup>	3,03	4,61 <sup>b</sup>
<i>T. sphaerococcum</i>	0,31 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,43 <sup>A</sup>	0,09 <sup>a</sup>	2,89	4,88 <sup>a</sup>
F test	12,77	16,05	14,03	9,42	3,37	11,09
<i>P</i>	0,0117	0,0071	0,0096	0,0220	0,1162	0,0158

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a, b, c</sup> *P* = 0,05, <sup>A, B, C</sup> *P* = 0,01).

LSD testom je utvrđeno da u drugom otkosu pšenične trave *T. sphaerococcum* ima značajno veći sadržaj klorofila a (0,31 mg/g sok), klorofila b (0,11 mg/g sok), klorofil a + b (0,43 mg/g sok), karotenoida (0,09 mg/g sok) te viši omjer klorofila i karotenoida (4,88) u usporedbi sa sortom pšenice Katarina.

Rezultati F testa kod sorte Katarina dokazali su značajan utjecaj broja otkosa na sadržaj fenola (*P* < 0,0001) i antioksidativnu aktivnost (*P* = 0,0012), (Tablica 11.).

**Tablica 11.** Sadržaj fenola, flavonoida, vitamina C i antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave sorte Katarina u prvom i drugom otkosu

KATARINA	Fenoli (μg GA/mL soka)	Flavonoidi (μg QC/mL soka)	Vitamin C (μg /1000 μL soka)	DPPH (mg IC50 %)
1. OTKOS	1090,82 <sup>A</sup>	389,58	4,8205	24,073 <sup>B</sup>
2. OTKOS	706,57 <sup>B</sup>	440,47	3,7837	40,999 <sup>A</sup>
F test	108,01	2,25	5,82	33,58
<i>P</i>	0,0001	0,1844	0,0524	0,0012

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a, b, c</sup> *P* = 0,05, <sup>A, B, C</sup> *P* = 0,01).

Prema LSD testu na razini značajnosti od 99 % kod sorte Katarina utvrđen je značajno veći sadržaj fenola u prvom otkosu (1098,82  $\mu\text{g GA/mL}$  soka) i veća antioksidativna aktivnost (40,999 mg IC50 %) u drugom otkosu.

F testom, u soku pšenične trave sorte Katarina, utvrđen je značajan utjecaj broja otkosa na sadržaj kloroplastnih pigmenata, kl a ( $P=0,0211$ ), kl b ( $P=0,0142$ ), kl a+b ( $P=0,0191$ ), kar ( $P=0,0047$ ), te na omjer kl/kar ( $P=0,0056$ ), (Tablica 12.).

**Tablica 12.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofil a + b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) kod sorte Katarina u prvom i drugom otkosu

KATARINA	Kl a (mg/g soka)	Kl b (mg/g soka)	kl a+b (mg/g soka)	Kar (mg/g soka)	kl a/kl b	kl/kar
1. OTKOS	0,31 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,10 <sup>A</sup>	3,06	4,28 <sup>B</sup>
2. OTKOS	0,24 <sup>b</sup>	0,08 <sup>b</sup>	0,32 <sup>b</sup>	0,07 <sup>B</sup>	3,30	4,61 <sup>A</sup>
F test	9,62	11,66	10,11	19,11	0,34	17,79
<i>P</i>	0,0211	0,0142	0,0191	0,0047	0,5795	0,0056

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a, b, c</sup>  $P = 0,05$ , <sup>A, B, C</sup>  $P = 0,01$ ).

LSD testom je kod sorte Katarina u prvom otkosu utvrđen značajno viši sadržaj klorofila a (0,31 mg/g sok), klorofila b (0,10 mg/g sok), klorofil a + b (0,41 mg/g sok), karotenoida (0,10 mg/g sok) te viši omjer klorofila i karotenoida (4,61), u odnosu na drugi otkos.

Rezultati F testa kod sorte *T. sphaerococcum* dokazuju značajan utjecaj broja otkosa na sadržaj fenola ( $P=0,0460$ ), flavonoida ( $P=0,0147$ ), vitamina C ( $P<0,0001$ ) i antioksidacijsku aktivnost ( $P=0,0057$ ) (Tablica 13.).

**Tablica 13.** Sadržaj fenola, flavonoida, vitamina C i antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave *T. sphaerococcum* u prvom i drugom otkosu

<i>T. sphaerococcum</i>	Fenoli ( $\mu\text{g GA/mL}$ soka)	Flavonoidi ( $\mu\text{g QC/mL}$ soka)	Vitamin C ( $\mu\text{g /1000 }\mu\text{L}$ soka)	DPPH (mg IC <sub>50</sub> %)
1. OTKOS	1038 <sup>a</sup>	510,31 <sup>a</sup>	7,54 <sup>A</sup>	33,08 <sup>B</sup>
2. OTKOS	717 <sup>b</sup>	464,15 <sup>b</sup>	1,46 <sup>B</sup>	44,02 <sup>A</sup>
F test	6,29	11,49	1308,23	17,59
<i>P</i>	0,0460	0,0147	0,0001	0,0057

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a, b, c</sup>  $P = 0,05$ , <sup>A, B, C</sup>  $P = 0,01$ ).

Prema LSD testu na razini značajnosti od 95 % kod *T. sphaerococcum* utvrđen je značajno veći sadržaj fenola (1038  $\mu\text{g GA/mL}$  soka) i flavonoida (510,31  $\mu\text{g QC/mL}$  soka), dok je na razini značajnosti od 99 % utvrđen značajno veći sadržaj vitamina C (7,54  $\mu\text{g /1000 }\mu\text{L}$  soka) i antioksidativna aktivnost (40,999 mg IC<sub>50</sub> %) kod ekstrakata pšenične trave prikupljenih u prvom otkosu.



Prema F testu utvrđen je značajan utjecaj broja otkosa na sadržaj klorofila b ( $P=0,0316$ ) te na omjer klorofila a i b ( $P=0,0369$ ) dok na ostale kloroplastne pigmente i omjere broj otkosa nije imao značajan utjecaj (Tablica 14.).

**Tablica 14.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofil a + b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) prvog i drugog otkosa *T. sphaerococcum*

<i>T. aestivum ssp. sphaerococcum</i>	Kl a (mg/g soka)	Kl b (mg/g soka)	kl a+b (mg/g soka)	Kar (mg/g soka)	kl a/kl b	kl/kar
1. OTKOS	0,28	0,09 <sup>b</sup>	0,38	0,08	3,08 <sup>a</sup>	4,76
2. OTKOS	0,32	0,11 <sup>a</sup>	0,43	0,09	2,89 <sup>b</sup>	4,88
F test	4,13	7,78	5,27	3,06	7,14	2,48
<i>P</i>	0,0883	0,0316	0,0615	0,1310	0,0369	0,1664

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a, b, c</sup>  $P = 0,05$ , <sup>A, B, C</sup>  $P = 0,01$ ).

Prema LSD testu na razini značajnosti od 95 % u drugom otkosu *T. sphaerococcum*, utvrđen je značajno veći sadržaj klorofila b (0,11 mg/g soka), značajno viši omjer klorofila i karotenoida (3,08) u prvom otkosu.

## 5. RASPRAVA

Sok od pšenične trave je najpopularniji konzumirani sok od mladica u svijetu. Proučavan je zbog velikog broja farmaceutskih učinaka na ljudsko zdravlje, uključujući sredstva za izgradnju krvi za talasemiju, sredstva za detoksikaciju, antioksidativne tvari i moguću uporabu kao protuupalnih i antikancerogenih tvari (Padalia i sur., 2010.) Tijekom cijele ljudske povijesti biljke su imale ključnu ulogu u liječenju ljudskih bolesti. Čovjek je pronašao mnoge biljke koje su dobre za liječenje ozbiljnih zdravstvenih problema (Rana i sur., 2011.). Pšenična trava (*Triticum aestivum* L.) je jedan od proizvoda s mnogim terapijskim svojstvima. To je moćan sastojak hranjivih tvari poput proteina, esencijalnih aminokiselina, vitamina, minerala, klorofila i aktivnih enzima (Aate i sur., 2017.).

Sok od pšenične trave jedan je od najboljih izvora klorofila, pored ostalih vitalnih hranjivih tvari (Mogra i Rathi, 2013.). Pšenična trava (*Triticum aestivum* L.) sadrži klorofil i flavonoide u optimalnoj količini. Sadrži i vitamine kao što su vitamin A, C i E te minerale poput željeza, kalcija i magnezija. Pokazalo se da klorofil brzo gradi crvene krvne stanice, liječi anemiju, normalizira krvni tlak dilatacijom krvnih žila. Stvara nepovoljno okruženje za rast bakterija u tijelu i stoga je učinkovit u povećanju otpornosti organizma na bolesti (Annapurna, 2011.).

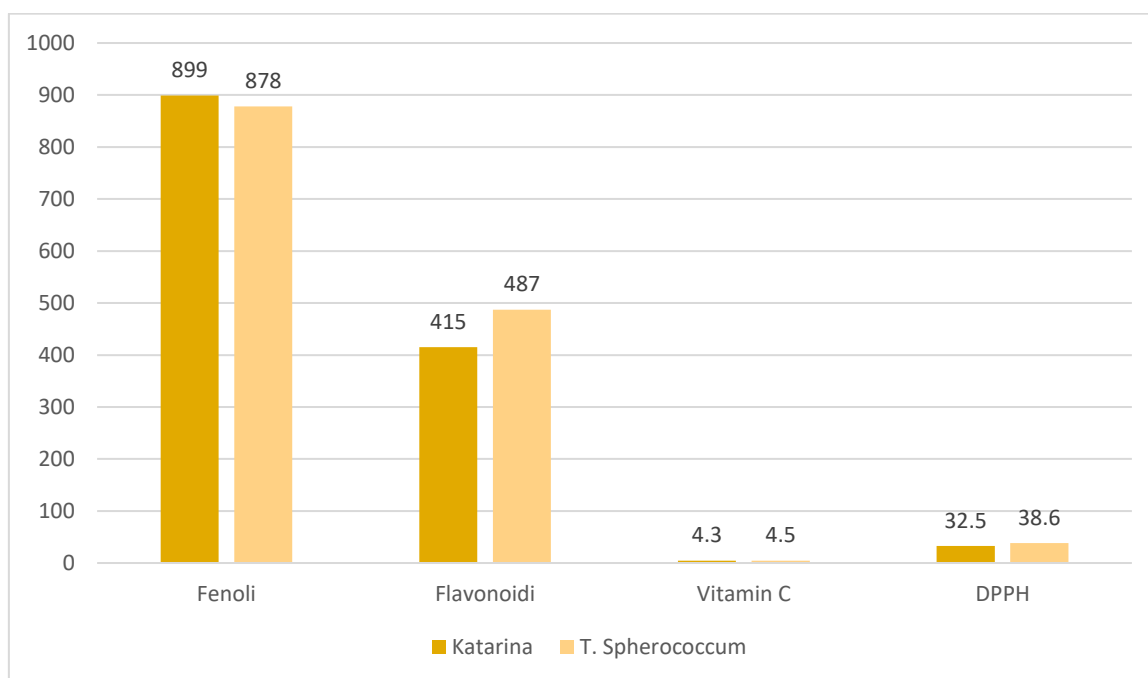
Mnoga istraživanja pšenične trave *Triticum aestivum* L. ukazuju da je sadržaj antioksidativnih aktivnosti znatno veći nego kod ostalih žitarica. Özköse i sur. (2016.) ističu da *Triticum aestivum* L. u usporedbi s ostalim žitaricama pokazuje najbolje rezultate u količini proteina, ukupnih fenola i flavonoida. Također istraživanje Chomchan i sur. (2016.) pokazuje da u usporedbi antioksidativnih aktivnosti riže i pšenične trave, razina bioaktivnih spojeva kao što su ukupni klorofili, klorofil a, klorofil b, askorbinska kiselina i ukupni fenoli, kod pšenične trave se značajno razlikuje u usporedbi s bioaktivnim sadržajem spojeva kod riže.

Prvobitna ideja ovog istraživanja je bila određivanje antioksidativnih aktivnosti u tri otkosa. Međutim zbog nedovoljno biljnog ekstrata u trećem otkosu, to nije bilo moguće provesti. Odvaga je bila nedovoljna i unatoč tome nisu mogla biti provedena daljnja ispitivanja i statističke analize (Tablica 15.).

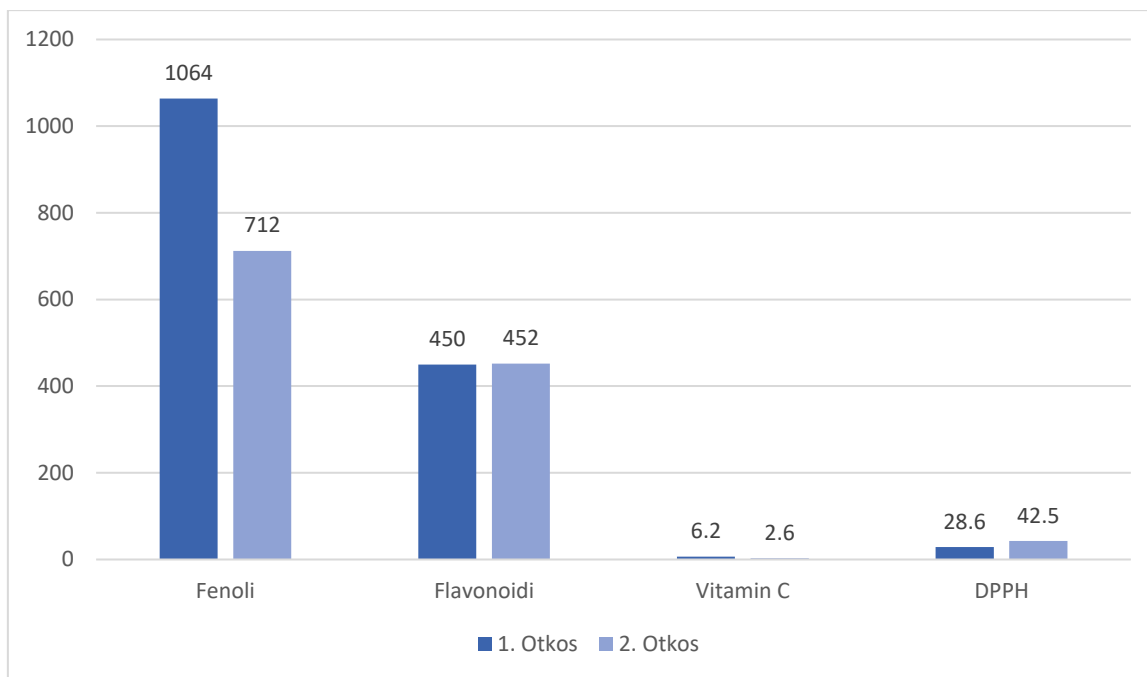
**Tablica 15.** Prikaz odvage 3. otkosa pšenične trave sorte Katarina i *T. sphaerococcum*

Genotip		Odvaga (g)
Katarina	I	0,59
	II	0,52
	III	1,87
	IV	0,45
<i>T. sphaerococcum</i>	I	1,28
	II	8,04
	III	4,70
	IV	2,36

U ovom istraživanju u usporedbi prvog i drugog otkosa utvrđen je značajan utjecaj genotipa na razini flavonoida i antioksidacijsku aktivnost te značajan utjecaj broja otkosa na fenole, vitamin C i antioksidacijsku aktivnost. *T. sphaerococcum* ima veću koncentraciju flavonoida (Grafikon 1), kao i značajno veću antioksidativnu aktivnost u usporedbi sa sortom pšenice Katarina. Kod broja otkosa, u prosjeku za oba genotipa, primjeti se kako se prvi otkos isticao značajno većim sadržajem fenola, također i značajno većim sadržajem vitamina C, dok je antioksidativna vrijednost bila značajno veća u drugom otkosu (Grafikon 2).

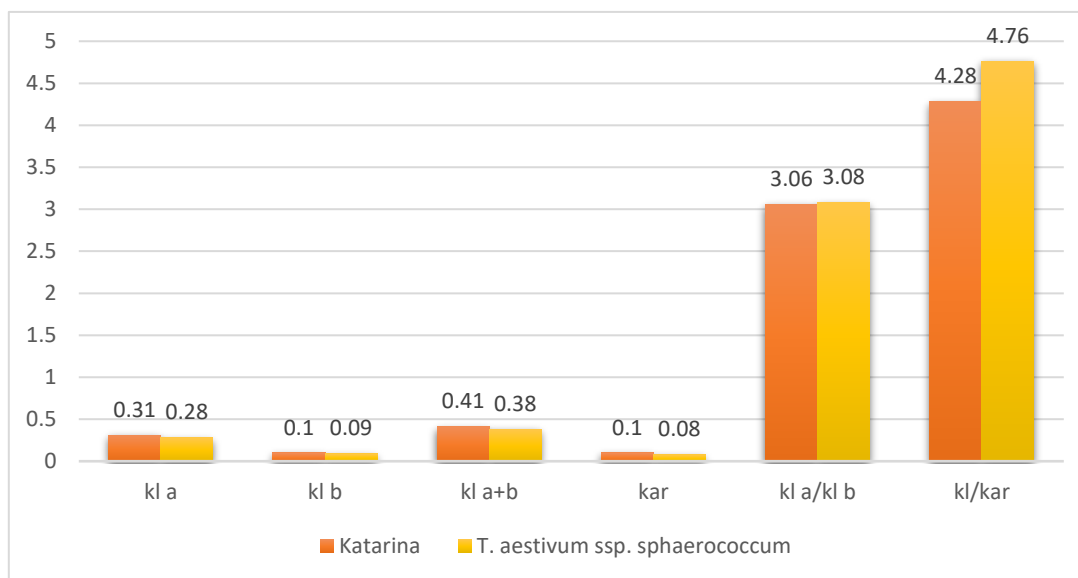


**Grafikon 1.** Prosječni sadržaj fenola, flavonoida, vitamina C i DPPH aktivnost kod oba genotipa (Prosjek za oba otkosa)



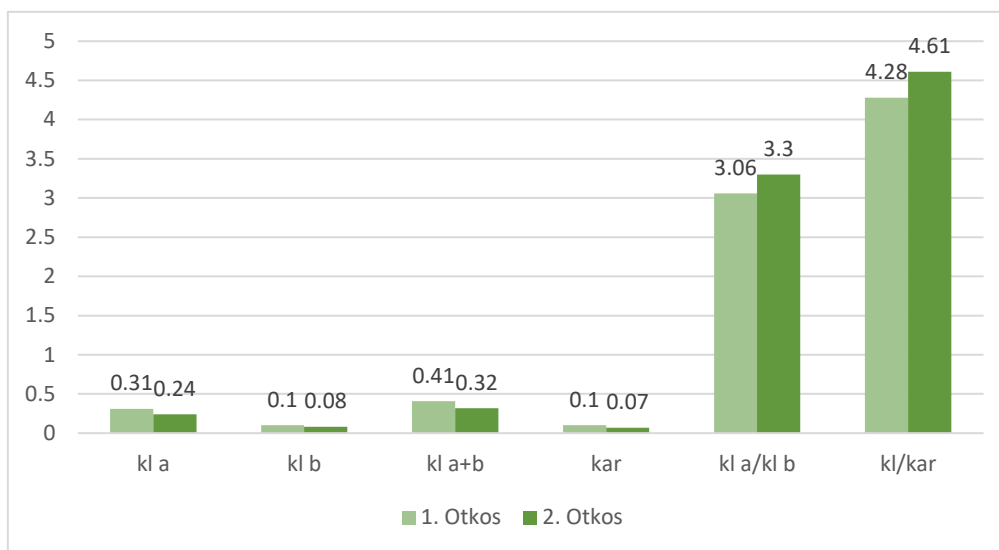
**Grafikon 2.** Prosječni sadržaj fenola, flavonoida, vitamina C i DPPH aktivnost kod 1. i 2. otkosa (Prosjek za oba genotipa)

U grafikonu 3 je vidljivo da u prvom otkosu sorta Katarina ima veći sadržaj karotenoida na razini značajnosti od 95 %, a *T. sphaerococcum* veći omjer klorofila i karotenoida na razini značajnosti od 99 %.



**Grafikon 3.** Prikaz količine klorofila i karotenoida u prvom otkosu pšenične trave za oba genotipa

Kod sorte Katarina u prvom otkosu, utvrđen je značajno viši sadržaj klorofila a, klorofila b, klorofil a + b na razini od 95% značajnosti, dok je sadržaj karotenoida veći te viši omjer klorofila i karotenoida na razini značajnosti od 99% (Grafikon 4.).

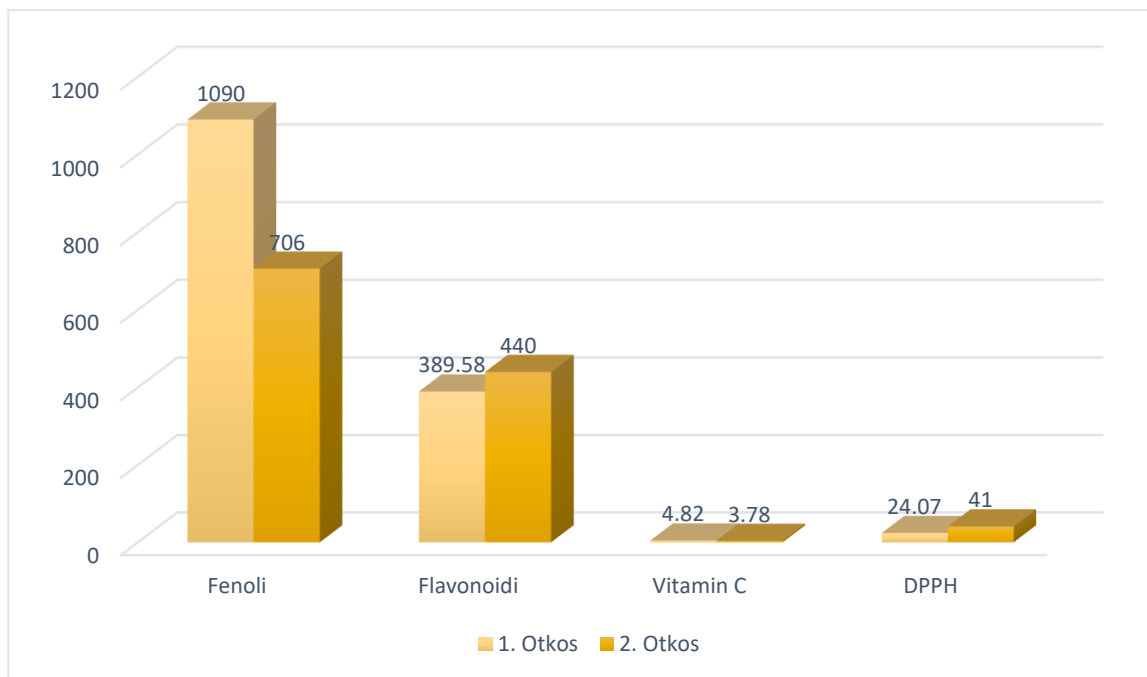


**Grafikon 4.** Prikaz razlike količina klorofila i karotenoida u oba otkosa pšenične trave sorte Katarina

Istraživanje Anwar i sur. (2015.) je utvrdilo da uzgoj pšenične trave u laboratoriju pod kontroliranim uvjetima daje bolje i veće prinose u prvom otkosu i da kontrolirani uvjeti mogu povećati razinu klorofila. Iako sadržaj proteina u drugom otkosu pokazuje veću vrijednost, količina klorofila je znatno veća u prvom otkosu pšenične trave pod kontroliranim laboratorijskim uvjetima. Također je dokazano u tom istraživanju da količina klorofila postupno opada i da ovisi o broju otkosa.

Kaushal (2017.) je istraživala ukupni sadržaj flavonoida i antioksidacijsku aktivnost u soku pšenične trave od 1. do 15. dana. Podaci su dobiveni iz tri ponavljanja i prikazuju da se sadržaj flavonoida kao i antioksidacijska aktivnost polako povećava tijekom prvog tjedna, brzo nakon toga do 9. dana je usporen rast, brzo nakon toga se smanjuje do 15. dana. Navedeno istraživanje je potvrdilo da se je najbolje obaviti sjetvu pšenične trave nakon prvog tjedna jer sadrži najvišu razinu ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnost.

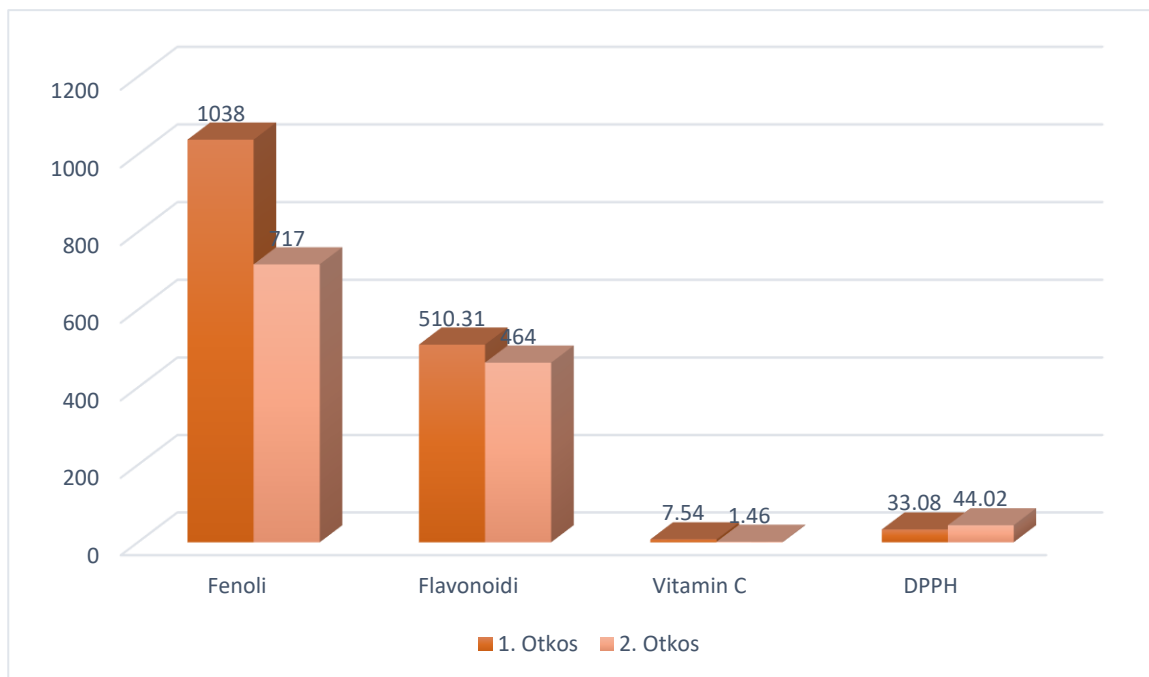
U usporedbi prvog i drugog otkosa pšenične trave sorte Katarina, na razini značajnosti od 99% utvrđen je značajno veći sadržaj fenola u prvom otkosu i veća antioksidativna vrijednost u drugom otkosu (Grafikon 5).



**Grafikon 5.** Prikaz antioksidacijskih aktivnosti u oba otkosa sorte Katarina

U prvom otkosu nema značajnih razlika osim u količini vitamina C gdje sorta Katarina sadržava veću količinu. U usporedbi pšeničnih trava Katarina i *T. sphaerococcum* možemo primjetiti znatnu razliku i pad antioksidacijskih vrijednosti drugog otkosa u odnosu prvog, što znači da aktivnost antioksidansa opada s brojem otkosa.

U usporedbi prvog i drugog otkosa *T. sphaerococcum* možemo primjetiti pad analiziranih antioksidansa, ali unatoč tomu porast ukupne antioksidacijske aktivnosti (DPPH) u drugom otkosu (Grafikon 6.).



**Grafikon 6.** Prikaz antioksidansa u prvom i drugom otkosu *T. aestivum ssp. sphaerococcum*

U prikazanim istraživanjima, primjećen je znatni pad razine antioksidanasa u drugom otkosu pšenične trave kod oba genotipa, iako je kod razine klorofila i karotenoida uočen značajan rast u drugom otkosu *T. sphaerococcum*. Sadržaj fenola u drugom otkosu kod obje vrste pšenične trave je također značajno smanjen, dok je promjena razine flavonoida je statistički gotovo beznačajna.



## 6. ZAKLJUČAK

1. U usporedbi prvog i drugog otkosa utvrđen je značajan utjecaj genotipa na razinu flavonoida i antioksidacijsku aktivnost te značajan utjecaj broja otkosa na fenole, vitamin C i antioksidacijsku aktivnost soka pšenične trave. *T. sphaerococcum* ima veću koncentraciju flavonoida, kao i značajno veću antioksidativnu aktivnost u usporedbi sa sortom Katarina. Kod broja otkosa, u prosjeku za oba genotipa, prvi se otkos isticao sa značajno većim sadržajem fenola, također i značajno većim sadržajem vitamina C, dok je antioksidativna vrijednost bila značajno veća u drugom otkosu.
2. U prvom otkosu sorta Katarina ima veći sadržaj karotenoida na razini značajnosti od 95 %, a *T. sphaerococcum* značajno veći omjer klorofila i karotenoida na razini značajnosti od 99 %.
3. Kod sorte Katarina, u prvom otkosu utvrđen je značajno viši sadržaj klorofila a, klorofila b, klorofil a + b na razini od 95% značajnosti, dok karotenoida te viši omjer klorofila i karotenoida ima veći sadržaj na razini značajnosti od 99%, u odnosu na drugi otkos.
4. U usporedbi prvog i drugog otkosa pšenične trave sorte Katarina na razini značajnosti od 99% utvrđen je značajno veći sadržaj fenola u prvom otkosu i veća antioksidativna vrijednost u drugom otkosu.
5. U usporedbi prvog i drugog otkosa *T. sphaerococcum* uočen je pad antioksidanasa. Unatoč tomu, u drugom otkosu je utvrđeno povećanje antioksidacijske aktivnosti (DPPH).
6. U prikazanim istraživanjima, kod razine klorofila i karotenoida se može primjetiti značajan rast u drugom otkosu *T. sphaerococcum*. Sadržaj fenola u drugom otkosu kod obje varijante pšenične trave je značajno smanjen, dok je promjena razine flavonoida statistički beznačajna.

## 7. POPIS LITERATURE

1. Aate, J., Urade, P., Potey, L., Kosalge, S. (2017.): A Review: Wheat Grass and its Health Benefits. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*, 9(4), 288-298.
2. Annapurna, A., (2011): Wheat grass health benefits, *Asian Journal of Pharmaceutical Research and health care*, Vol 3, No 3 (2011)
3. Anwar, D. A., El-Yazied, A. A., Thanaa, F. M., Abdallah, M. M. F. (2015.): Wheatgrass juice and its nutritional value as affected by sprouting condition. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 23(1), 37-48.
4. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995): Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food Science and Technology* Volume 28, Issue 1, 1995, Page 25-30, [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
5. Carr, C. A., Lykkesfeldt, J. (2017.): *Vitamin C in Health and Disease: Nutrients* 2017., *Nutrients* (ISSN 2072-6643)
6. Chomchan, R., Siripongvutikorn, A. P. D. S., Puttarak, P., Rattanapon, M. R. (2016.): Investigation of phytochemical constituents, phenolic profiles and antioxidant activities of ricegrass juice compared to wheatgrass juice. *Functional Foods in Health and Disease*, 6(12), 822-835.
7. Dai, J., Mumper, R. J. (2010.): *Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties*. *Molecules*, 15(10), 7313-7352. doi: 10.3390/molecules15107313
8. Das, A., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. (2012.): Effect of freeze drying and oven drying on antioxidant properties of fresh wheatgrass. *International journal of food sciences and nutrition*, 63(6), 718-721.
9. De La Rosa, L.A., Moreno-Escamilla, J., O., Rodrigo-García, J., Alvarez-Parrilla, E., (2019.): *Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00012-9>
10. Fisher-Wellman, K., H., Bloomer, R., J. (2009.): Handbook of vitamin C research, Chapter 1: *Impact of Vitamin C on Exercise-Induced Oxidative Stress and Tissue Injury*, ISBN 978-1-60741-874-0, 1-45
11. Ghumman, A., Singh, N., Kaur, A. (2017): Chemical, nutritional and phenolic composition of wheatgrass and pulse shoots. *International journal of food science & technology*, 52(10), 2191-2200.

12. Gregory, J., F., (1996.): Vitamins. In: Fennema OR, editor. Food chemistry. New York: Marcel Dekker., 531–616.
13. Holm, G. (1945): Chlorophyll matuations in barely Acta Agric. Scand 4: 457-461
14. Jyotsna, A. S. (2017.): Wheat grass juice – nutritional supplements for management of various diseases. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences* 3(5), 115-119.
15. Kazazić, S., P. (2004.): *Antioksidacijska i antiradikalska aktivnost flavonoida*, Institut „Ruđer Bošković“, Zagreb, 279-290
16. Kulkarni, S. D., Tilak, J. C., Acharya, R., Rajurkar, N. S., Devasagayam, T. P. A., & Reddy, A. V. R. (2006.): Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as a function of growth under different conditions. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(3), 218-227.
17. Lohr M., (2009.): *Carotenoids. The Chlamydomonas Sourcebook*, 799-817. doi: 10.1016/b978-0-12-370873-1.00029-0
18. Miyaji, T., Kuromori, T., Takeuchi, Y., Yamaji, N., Yokosho, K., Shimazawa, A. (2015.): AtPHT4;4 is a chloroplast-localized ascorbate transporter in Arabidopsis. *Nature Communications*, 6(1). doi: 10.1038/ncomms6928
19. Mogra, R., Rathi, P., (2013.): *Health benefits of Wheat grass – A wonder food*, Research Paper, Vol.2, Iss.4, Oct-Dec 2013
20. Özköse, A., Arslan, D., Aysenur, A. C. A. R. (2016): The comparison of the chemical composition, sensory, phenolic and antioxidant properties of juices from different wheatgrass and turfgrass species. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(2), 499-507.
21. Padalia, S., Drabu, S., Raheja, I., Gupta, A., & Dhamija, M. (2010.): Multitude potential of wheatgrass juice (Green Blood): An overview. *Chronicles of young scientists*, 1(2), 23.
22. Payá, M., Halliwell, B., & Hoult, J. R. S. (1992):. *Interactions of a series of coumarins with reactive oxygen species. Biochemical Pharmacology*, 44(2), 205–214. doi:10.1016/0006-2952(92)90002-z
23. Rana, S., Kamboj, J. K., & Gandhi, V. (2011.): Living life the natural way– Wheatgrass and Health. *Functional foods in health and disease*, 1(11), 444-456.

24. Roca, M., Chen, K., Pérez-Gálvez, A. (2016.): Chlorophylls. In *Handbook on natural pigments in food and beverages*. Woodhead Publishing; pp. 125-158
25. Roe, J., H., Kuether, C., A., (1942.): A color reaction for Dehydroascorbic acid useful in the determination of vitamin C. *Science*, 95(2455), 77-77. doi:10.1126/science.95.2455.77
26. Suriyavathana, M., & Roopavathi, I. (2016.): Phytochemical Characterization of *Triticum Aestivum* (Wheat Grass). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(1), 283.
27. Kaushal, V. S. (2017.) Time dependent antioxidant activity in wheatgrass (*Triticum aestivum*). *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 4(9), 347-349.
28. Wangcharoen, W., Phimphilai, S. (2016.): Chlorophyll and total phenolic contents, antioxidant activities and consumer acceptance test of processed grass drinks. *Journal of food science and technology*, 53(12), 4135-4140.
29. Wettstein, D. (1957): Chlorophyll – letate und her submikroskopische Formwechsel der Plastiden Exp. Cell Res. 12, 427-487
30. Wigmore, A. (1985): *The wheatgrass book*. Penguin.
31. Zendehbad, S. H., Mehran, M. J., Malla, S. (2014.): Flavonoids and phenolic content in wheat grass plant (*Triticum aestivum*). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(4), 184-187.
32. Žanetić M, Gugić M. (2006.): Zdravstvene vrijednosti maslinovog ulja. *Pulmologia Croatica*, 2006, 12, 159-173.

## 8. SAŽETAK

Pšenična trava (*Triticum aestivum* L.) je bogata različitim hranjivim tvarima, sadrži značajnu količinu željeza, fosfora, cinka, bakra i drugih minerala, visoku količinu vitamina E, klorofila, vitalnih enzima i aminokiselina. Biljke u mladoj fazi proizvode visoku razinu fitokemikalija kako bi se zaštitile od opasnosti i ti spojevi imaju različite biološke koristi za ljudsko zdravlje. Mladica, kao svježa, može se predložiti kao dobar izbor zdrave prehrane. Zbog svojih nutritivnih vrijednosti i sve većeg broja znanstvenih istraživanja postaje sve popularnija kao dodatak svakodnevnoj prehrani ljudi. Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi i usporediti utjecaj broja otkosa na antioksidativnu aktivnost u ekstraktu lista pšenične trave. Laboratorijskim analizama utvrđena je ukupna antioksidativna aktivnost (DPPH), sadržaj biljnih pigmenata, vitamina C, te fenola i flavonoida u soku lista. U pokusu su ispitana dva genotipa pšenične trave, *Triticum aestivum* L. i *T. sphaerococcum*. U usporedbi prvog i drugog otkosa utvrđen je značajan utjecaj genotipa na razini flavonoida i antioksidacijske aktivnosti te značajan utjecaj broja otkosa na fenole, vitamin C i antioksidacijsku aktivnost. *T. sphaerococcum* ima veću koncentraciju flavonoida, kao i značajno veću antioksidativnu aktivnost u usporedbi sa sortom pšenice Katarina. Kod broja otkosa, u prosjeku za obje sorte, vidljivo je da se prvi otkos isticao sa značajno većim sadržajem fenola, također i značajno većim sadržajem vitamina C, dok je antioksidativna vrijednost bila značajno veća u drugom otkosu. U prvom otkosu sorta Katarina ima veći sadržaj karotenoida na razini značajnosti od 95 %, a *T. sphaerococcum* veći omjer klorofila i karotenoida na razini značajnosti od 99 %. U usporedbi prvog i drugog otkosa pšenične trave sorte Katarina na razini značajnosti od 99% utvrđen je značajno veći sadržaj fenola u prvom otkosu i veća antioksidativna aktivnost u drugom otkosu. U usporedbi prvog i drugog otkosa *T. sphaerococcum* uočljiv je pad antioksidanasa.

## 9. SUMMARY

Wheat grass (*Triticum aestivum* L.) is rich in various nutrients, contains a significant amount of iron, phosphorus, zinc, copper and other minerals, high levels of vitamin E, chlorophylls, vital enzymes and amino acids. Plants at a young stage produce high levels of phytochemicals to protect themselves from hazards and these compounds have different biological benefits for human health. The shoot, as fresh, can be suggested as a good choice of a healthy diet. Due to its nutritional value and the increasing number of scientific studies, it is becoming more and more popular as a supplement to daily human consumption. The aim of this study was to determine and compare the impact by number of cuts on antioxidant activity in the extract of the wheat grass. Laboratory analyzes were determined by total antioxidant activity (DPPH), content of plant pigments, vitamin C, phenol and flavonoids in the leaf juice. Two wheat grass genotypes, *Triticum aestivum* L. and *T. sphaerococcum*, were tested in the experiment. In the comparison of the first and the second cut, significant impact was determined of the genotypes on the level of flavonoids and antioxidant activity and significant impact of the number of cuts on phenols, vitamin C and antioxidant activity. *T. sphaerococcum* has a higher concentration of flavonoids, as well as a significantly higher antioxidant activity compared to Katarina variety. In the number of cuts, on average for the both genotypes, it was evident that the first cut had a significantly higher phenol content, also significantly higher vitamin C content, while the antioxidant value was significantly higher in the second cut. In the first cut of Katarina variety has a higher carotenoid content at a significance of 95%, and *T. sphaerococcum* is higher in chlorophylls and carotenoids ratio by a significance of 99%. Compared to the first and second cut of Katarina variety, at the significance of 99%, is showed significantly higher phenol content in the first cut and a higher antioxidant activity in the second cut. In comparison of the first and second cut of *T. sphaerococcum*, decrease in antioxidants was observed.

## 10. POPIS TABLICA

**Tablica 1.** Sistematika pšenice ( *Triticum sp.* L.) (Stranica 1)

**Tablica 2.** Količina hranjivih tvari u soku pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) (28.35g) (Stranica 3)

**Tablica 3.** Kemijski sastav pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) (Stranica 3)

**Tablica 4.** Kemikalije potrebne za metodu prema Roe i Huetheru (1943.) (Stranica 20)

**Tablica 5.** Utjecaj genotipa i broj otkosa na antioksidativne aktivnosti i antioksidanse (Stranica 22)

**Tablica 6.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofil a + b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar). (Stranica 23)

**Tablica 7.** Značajnost utjecaja genotipa na sadržaj flavonoida, vitamina C i DPPH u prvom otkosu (Stranica 24)

**Tablica 8.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofil a + b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u prvom otkosu (Stranica 25)

**Tablica 9.** Sadržaj flavonoida, vitamina C i DPPH u drugom otkosu (Stranica 26)

**Tablica 10.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofil a + b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u drugom otkosu (Stranica 27)

**Tablica 11.** Sadržaj fenola, flavonoida, vitamina C i antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave sorte Katarina u prvom i drugom otkosu (Stranica 27)

**Tablica 12.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofil a + b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) kod sorte Katarina u prvom i drugom otkosu (Stranica 28)

**Tablica 13.** Sadržaj fenola, flavonoida, vitamina C i antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave *T. sphaerococcum* u prvom i drugom otkosu (Stranica 29)

**Tablica 14.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofil a + b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) prvog i drugog otkosa *T. Sphaerococcum* (Stranica 30)

**Tablica 15.** Prikaz odvage 3. otkosa pšenične trave sorte Katarina i *T. Sphaerococcum*  
(Stranica 32)



## 11. POPIS SLIKA

**Slika 1.** Pšenična trava (*Triticum aestivum* L) (Josipa Rupčić) (Stranica 2)

**Slika 2.** Struktura klorofila a i b (Izvor: <https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-Chlorophyll-a-and-Chlorophyll-b>) (Stranica 5)

**Slika 3.** Karotenoidi s različitim terminalnim skupinama (Izvor: <https://www.intechopen.com/books/carotenoids/the-biochemistry-and-antioxidant-properties-of-carotenoids>) (Stranica 6)

**Slika 4.** Sadržaj bioaktivnih spojeva rižine trave i pšenične trave (Chomchan i sur., 2016.) (Stranica 9)

**Slika 5.** Koncentracija bioaktivnih spojeva i DPPH vrijednost (Özköse i sur., 2016.) (Stranica 10)

**Slika 6.** Količina ukupnih flavonoida i antioksidativne aktivnosti po danima (Kaushal, 2017.) (Stranica 11)

**Slika 7.** Sadržaj fenola u pšeničnoj travi (Sutar-Kapashikar i sur., 2018.) (Stranica 12)

**Slika 8.** Sadržaj flavonoida i ukupnih polifenola ekstrakcijom kloroformom i metanolom (Zendeabad i sur., 2014.) (Stranica 12)

**Slika 9.** Utjecaj uzgojnih mjesta i broj otkosa na sadržaj proteina i klorofila u soku pšenične trave (Anwar i sur., 2015.) (Stranica 13)

**Slika 10.** Sadržaj klorofila, ukupni fenoli (TPC) i antioksidativne aktivnosti (Wangcharoen i Phimphilai, 2016.) (Stranica 13)

**Slika 11.** Fizičko-kemijska svojstva soka pšenične trave i mahunarki (Ghumman i sur., 2017.) (Stranica 14)

**Slika 12.** Priprema zrna za naklijavanje (Josipa Rupčić) (Stranica 16)

**Slika 13.** posijana pšenica u komori (Josipa Rupčić) (Stranica 17)

**Slika 14.** Pipetiranje uzoraka za spektrofotometrijsko mjerenje antioksidativnih aktivnosti (Josipa Rupčić) (Stranica 20)

## 12. POPIS GRAFIKONA

**Grafikon 1.** Prosječni sadržaj fenola, flavonoida, vitamina C i DPPH aktivnost kod oba genotipa (Prosjek za oba otkosa) (Stranica 33)

**Grafikon 2.** Prosječni sadržaj fenola, flavonoida, vitamina C i DPPH aktivnost kod 1. i 2. otkosa (Prosjek za oba genotipa) (Stranica 34)

**Grafikon 3.** Prikaz količine klorofila i karotenoida u prvom otkosu pšenične trave za oba genotipa (Stranica 34)

**Grafikon 4.** Prikaz razlike količina klorofila i karotenoida u oba otkosa pšenične trave sorte Katarina (Stranica 35)

**Grafikon 5.** Prikaz antioksidacijskih aktivnosti u oba otkosa sorte Katarina (Stranica 36)

**Grafikon 6.** Prikaz antioksidansa u prvom i drugom otkosu *T. aestivum ssp. sphaerococcum* (Stranica 37)

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Fakultet agrobiotehničkih znanosti u Osijeku  
Sveučilišni diplomski studij, Ishrana bilja i tloznanstvo

Diplomski rad

Utjecaj sorte i otkosa na funkcionalna svojstva pšenične trave (*Triticum aestivum* L.)

Josipa Rupčić

## Sažetak

Pšenična trava (*Triticum aestivum* L.) je bogata različitim hranjivim tvarima, sadrži značajnu količinu željeza, fosfora, cinka, bakra i drugih minerala, visoku količinu vitamina E, klorofila, vitalnih enzima i aminokiselina. Biljke u mladoj fazi proizvode visoku razinu fitokemikalija kako bi se zaštitile od opasnosti i ti spojevi imaju različite biološke koristi za ljudsko zdravlje. Mladica, kao svježa, može se predložiti kao dobar izbor zdrave prehrane. Zbog svojih nutritivnih vrijednosti i sve većeg broja znanstvenih istraživanja postaje sve popularnija kao dodatak svakodnevnoj prehrani ljudi. Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi i usporediti utjecaj broja otkosa na antioksidativnu aktivnost u ekstraktu lista pšenične trave. Laboratorijskim analizama utvrđena je ukupna antioksidativna aktivnost (DPPH), sadržaj biljnih pigmenata, vitamina C, te fenola i flavonoida u soku lista. U pokusu su ispitana dva genotipa pšenične trave, *Triticum aestivum* L. i *T. sphaerococcum*. U usporedbi prvog i drugog otkosa utvrđen je značajan utjecaj genotipa na razini flavonoida i antioksidacijske aktivnosti te značajan utjecaj broja otkosa na fenole, vitamin C i antioksidacijsku aktivnost. *T. sphaerococcum* ima veću koncentraciju flavonoida, kao i značajno veću antioksidativnu aktivnost u usporedbi sa sortom pšenice Katarina. Kod broja otkosa, u prosjeku za obje sorte, vidljivo je da se prvi otkos isticao sa značajno većim sadržajem fenola, također i značajno većim sadržajem vitamina C, dok je antioksidativna vrijednost bila značajno veća u drugom otkosu. U prvom otkosu sorta Katarina ima veći sadržaj karotenoida na razini značajnosti od 95 %, a *T. sphaerococcum* veći omjer klorofila i karotenoida na razini značajnosti od 99 %. U usporedbi prvog i drugog otkosa pšenične trave sorte Katarina na razini značajnosti od 99% utvrđen je značajno veći sadržaj fenola u prvom otkosu i veća antioksidativna aktivnost u drugom otkosu. U usporedbi prvog i drugog otkosa *T. sphaerococcum* uočljiv je pad antioksidanasa.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak

**Broj stranica:** 46

**Broj grafikona i slika:** 20

**Broj tablica:** 15

**Broj literaturnih navoda:** 30

**Broj priloga:** /

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** pšenična trava, sadržaj fenola, sadržaj flavonoida, kloroplastni pigmenti, antioksidativna aktivnost, DPPH

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. izv. prof. gr. sc. Andrijana Rebekić, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak, mentor
3. prof. dr. sc. Tihana Teklić, član

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilištu Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

# BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
Faculty of Agrobiotechnical sciences  
University Graduate Studies, Plant Nutrition and Soil Science

Graduate thesis

Influence of sortiment and cuttings on functional properties of  
wheat grass (*Triticum aestivum* L.)  
Josipa Rupčić

## Abstract:

Wheat grass (*Triticum aestivum* L.) is rich in various nutrients, contains a significant amount of iron, phosphorus, zinc, copper and other minerals, high levels of vitamin E, chlorophylls, vital enzymes and amino acids. Plants at a young stage produce high levels of phytochemicals to protect themselves from hazards and these compounds have different biological benefits for human health. The shoot, as fresh, can be suggested as a good choice of a healthy diet. Due to its nutritional value and the increasing number of scientific studies, it is becoming more and more popular as a supplement to daily human consumption. The aim of this study was to determine and compare the impact by number of cuts on antioxidant activity in the extract of the wheat grass. Laboratory analyzes were determined by total actioxidant activity (DPPH), content of plant pigments, vitamin C, phenol and flavonoids in the leaf juice. Two wheat grass genotypes, *Triticum aestivum* L. and *T. sphaerococcum*, were tested in the experiment. In the comparison of the first and the second cut, significant impact was determined of the genotypes on the level of flavonoids and antioxidant activity and significant impact of the number of cuts on phenols, vitamin C and antioxidant activity. *T. sphaerococcum* has a higher concentration of flavonoids, as well as a significantly higher antioxidant activity compared to Katarina variety. In the number of cuts, on average for the both genotypes, it was evident that the first cut had a significantly higher phenol content, also significantly higher vitamin C content, while the antioxidant value was significantly higher in the second cut. In the first cut of Katarina variety has a higher carotenoid content at a significance of 95%, and *T. sphaerococcum* is higher in chlorophylls and carotenoids ratio by a significance of 99%. Compared to the first and second cut of Katarina variety, at the significance of 99%, is showed significantly higher phenol content in the first cut and a higher antioxidant activity in the second cut. In comparison of the first and second cut of *T. sphaerococcum*, decrease in antioxidants was observed.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** PhD. Miroslav Lisjak, associate professor

**Number of pages:** 46

**Number of figures:** 20

**Number of tables:** 15

**Number of references:** 30

**Number of appendices:** /

**Original in:** Croatian

**Key words:** wheat grass, phenols content, flavonoids content, chloplast pigments, antioxidant activity, DPPH

**Thesis defended on date:**

## Reviewers:

1. izv. prof. gr. sc. Andrijana Rebekić, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak, mentor
3. prof. dr. sc. Tihana Teklić, član

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1